

AVVISO IMPORTANTE

MONOGRAFIE GENERALI

La Farmacopea Europea contiene un certo numero di monografie generali che si riferiscono a classi di prodotti. Il contenuto di queste monografie generali si applica a tutti i prodotti che fanno parte di una data classe o, in alcuni casi, ad ogni prodotto di una data classe per il quale è presente, nella Farmacopea, una specifica monografia (vedi 1. Prescrizioni Generali della Farmacopea Europea, Monografie generali). Quando nel preambolo non viene indicata alcuna restrizione sullo scopo di una monografia generale, questa si applica a tutti i prodotti che fanno parte della classe definita indipendentemente dal fatto che nella Farmacopea sia presente o meno una monografia per il singolo prodotto.

Quando per un prodotto si fa riferimento ad una monografia è essenziale accertarsi se è presente una monografia generale applicabile al prodotto in questione. Le monografie generali sotto elencate sono pubblicate, se non diversamente indicato, nella sezione Monografie Generali.

Anticorpi monoclonali per uso umano (2031)

Droghe vegetali (1433)

Droghe vegetali per preparazioni omeopatiche (2045)
(pubblicato nella sezione Preparazioni Omeopatiche)

Essenze (2098)

Estratti (0765)

Metodi di preparazioni di materiali di partenza omeopatici e diluizioni (2371)
(pubblicato nella sezione Preparazioni Omeopatiche)

Monografie di Forme Farmaceutiche
(pubblicate nella sezione Forme Farmaceutiche)

Oli grassi vegetali (1579)

Piante per tisane (1435)

Preparazioni a base di droghe vegetali (1434)

Preparazioni omeopatiche (1038)
(pubblicate nella sezione Preparazioni Omeopatiche)

Preparazioni radiofarmaceutiche (0125)

Prodotti allergenici (1063)

Prodotti aventi il rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali (1483)

Prodotti di fermentazione (1468)

Prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante (0784)

Sierimmuni di origine animale per uso umano (0084)

Sierimmuni per uso veterinario (0030)

Sostanze per uso farmaceutico (2034)

Tinture madri per preparazione omeopatiche (2029)
(pubblicate nella sezione Preparazioni Omeopatiche)

Vaccini per uso umano (0153)

Vaccini per uso veterinario (0062)

PHARMACOPOEA ITALICA

EDITIO DUODECIMA

ROMAE MMVIII

MINISTERO DEL LAVORO,
DELLA SALUTE E DELLE POLITICHE SOCIALI
COMMISSIONE PERMANENTE PER LA REVISIONE
E LA PUBBLICAZIONE DELLA FARMACOPEA UFFICIALE

FARMACOPEA UFFICIALE

della Repubblica Italiana

XII Edizione

ROMA 2008

ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO

IL MINISTRO

Visto l'art. 124 del Testo Unico delle Leggi sanitarie approvato con Regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, modificato dalla legge 7 novembre 1942, n. 1528;

Visto il regolamento per il servizio farmaceutico, approvato con Regio decreto 30 settembre 1938, n. 1706;

Vista la legge 9 novembre 1961, n. 1242, relativa alla revisione e pubblicazione della Farmacopea Ufficiale;

Vista la legge 22 ottobre 1973, n. 752, relativa alla ratifica ed esecuzione della Convenzione europea per la elaborazione di una Farmacopea europea, adottata a Strasburgo il 22 luglio 1964;

Vista la legge 23 dicembre 1978, n. 833, sulla istituzione del Servizio sanitario nazionale;

Visto l'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, relativa alle disposizioni per l'adempimento degli obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alla Comunità europea (legge comunitaria 1995- 1997);

Visto il decreto ministeriale 9 ottobre 1998 (del quale è stato dato avviso nella G.U. n. 1 del 2 gennaio 1999), con il quale è stato approvato il testo della X edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana;

Visto il decreto ministeriale 2 maggio 2002 (del quale è stato dato avviso nella G.U. n. 198 del 26 giugno 2002), con il quale è stato approvato il testo della XI edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana;

Vista la Farmacopea Europea, VI edizione, aggiornata ed integrata in base alle risoluzioni del Comitato di sanità pubblica del Consiglio d'Europa (accordo parziale), adottata a seguito delle decisioni prese dalla Commissione europea di farmacopea in applicazione delle disposizioni dell'art. 6 della Convenzione europea predetta;

Sentita la Commissione permanente per la revisione e pubblicazione della Farmacopea Ufficiale, prevista dalla citata legge 9 novembre 1961, n. 1242;

Ritenuto di dovere procedere all'approvazione del testo della nuova edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana, predisposto dalla predetta Commissione anche sulla base delle decisioni adottate dalla Commissione europea di farmacopea;

Visto il decreto-legge 16 maggio 2008, n. 85, convertito, con modificazioni, in legge 14 luglio 2008, n. 121, recante disposizioni urgenti per l'adeguamento delle strutture di Governo in applicazione dell'articolo 1, commi 376 e 377, della legge 24 dicembre 2007, n. 244.

Decreta:

Art. 1.

È approvato il testo della XII Edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana.

Art. 2.

La XII edizione della “Farmacopea Ufficiale” sarà pubblicata dall’Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato ed entrerà in vigore a partire dal novantesimo giorno successivo alla pubblicazione, nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana, del comunicato relativo alla emanazione del presente decreto.

Roma, 3 dicembre 2008

Il Ministro



CONTENUTO

I.	PREFAZIONE	IX
II.	PREFAZIONE ALLA VI EDIZIONE DELLA FARMACOPEA EUROPEA	XI
III.	INTRODUZIONE ALLA VI EDIZIONE DELLA FARMACOPEA EUROPEA	XVII
IV.	COMMISSIONE PERMANENTE PER LA REVISIONE E LA PUBBLICAZIONE DELLA FARMACOPEA UFFICIALE	XXIII
V.	COMMISSIONE DELLA FARMACOPEA EUROPEA	XXV
VI.	CONTENUTO DELLA XII EDIZIONE	XXX

CAPITOLI GENERALI

1.	Prescrizioni generali	3
1.	1. Prescrizioni generali della Farmacopea Europea	5
1.	1. FU1 Prescrizioni generali della Farmacopea Ufficiale	16
2.	Metodi di analisi	19
2.1.	2.1. Apparecchiature	21
2.2.	2.2. Metodi generali fisici e fisico-chimici	27
2.3.	2.3. Identificazione	123
2.4.	2.4. Saggi limite	133
2.5.	2.5. Saggi	167
2.6.	2.6. Saggi biologici	191
2.7.	2.7. Dosaggi biologici	261
2.8.	2.8. Metodi generali di farmacognosia	321
2.9.	2.9. Saggi e procedimenti tecnologici	337
3.	Materiali usati nella fabbricazione di contenitori e Contenitori	445
3.1.	3.1. Materiali usati nella fabbricazione di contenitori	447
3.2.	3.2. Contenitori	495
4.	Reattivi	519
5.	Argomenti generali	673

MONOGRAFIE

Monografie generali	825
Forme farmaceutiche	883
Materie prime	943
Preparazioni farmaceutiche specifiche	1015
Preparazioni omeopatiche	1327

TABELLE	1341
---------	------

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI MEDICINALI IN FARMACIA	1415
--	------

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI RADIOFARMACI PER MEDICINA NUCLEARE	1427
--	------

<i>Decreto di recepimento della 6^a edizione della Farmacopea Europea</i>	1440
---	------

<i>Decreto di recepimento dei supplementi 6.1, 6.2 e 6.3 alla 6^a edizione della Farmacopea Europea</i>	1533
---	------

INDICE	1545
--------	------

I. PREFAZIONE

La qualità delle sostanze per uso farmaceutico come garanzia per la loro sicurezza d'uso ed efficacia deve essere valutata in base a norme, ovvero specifiche, continuamente aggiornate nei confronti del progresso scientifico-tecnologico, di eventuali problemi emergenti e dello sviluppo regolatorio. Ciò comporta una costante e dinamica revisione dei testi che costituiscono tali norme e la conseguente loro pubblicazione nella "farmacopea di riferimento".

Per i Paesi dell'Unione Europea la "farmacopea di riferimento" è costituita dai testi in vigore della Farmacopea Europea e delle eventuali farmacopee nazionali; questi ultimi sono infatti, nella UE, norme sopranazionali. Per quanto riguarda il nostro Paese, la 6^a edizione della Farmacopea Europea e supplementi (pubblicata e recepita in inglese e francese ed in vigore dal 1 gennaio 2008) insieme alla presente XII ed. della FU costituiscono, oggi, la Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana. Un certo numero dei testi europei e nazionali in essa contenuti sono stati oggetto del citato processo di revisione. Un particolare aspetto che ha caratterizzato tale processo nei testi europei riguarda le monografie generali. Come riportato nella stessa introduzione della 6^a edizione della Farmacopea Europea tali monografie non solo sono complementari per le singole monografie specifiche ma contengono norme che debbono essere applicate, tranne quando dichiarato esplicitamente, anche per le singole sostanze per le quali non esiste la relativa monografia di farmacopea.

Come noto l'obbligo di detenzione in farmacia, sia essa ospedaliera che pubblica, è limitato alla sola XII ed. della FU. Ne consegue che il farmacista che esplica un'attività preparatoria (attività, da effettuare nel rispetto di un Sistema di Assicurazione della Qualità, sempre più rivolta a formule personalizzate ovvero a sole preparazioni magistrali), deve provvedere alla acquisizione dei testi europei necessari per una corretta esecuzione delle preparazioni stesse. Al riguardo, a parziale supporto del farmacista è stato ritenuto opportuno inserire nella FU un certo numero di monografie europee di carattere generale; tra queste la monografia "Sostanze per uso farmaceutico" che riveste particolare rilevanza per il farmacista. Infatti in essa è previsto che, quando una sostanza non descritta in una singola monografia di farmacopea viene utilizzata in un prodotto medicinale preparato estemporaneamente per le esigenze di singoli pazienti, è compito del farmacista decidere, mediante una valutazione di rischio (valutazione da effettuare alla luce della qualità della sostanza a disposizione e del suo uso proposto), il rispetto o meno delle specifiche imposte dalla monografia generale stessa.

II. PREFAZIONE ALLA VI EDIZIONE DELLA FARMACOPEA EUROPEA

La Farmacopea Europea nasce nel 1964 a seguito della firma, sotto l'egida del Consiglio d'Europa, della Convenzione relativa alla elaborazione di una Farmacopea Europea. La Pubblicazione della 6^a Edizione coincide con il 43^{mo} anniversario della Farmacopea e con il trasferimento dell'EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care) nella sua nuova sede sempre a Strasburgo. Uno sviluppo rimarchevole ha caratterizzato il lavoro fatto per la Farmacopea nei decenni trascorsi: dai testi della 1^a Edizione alla pubblicazione, con cicli triennali, della 4^a, 5^a e 6^a Edizione ciascuna con tre supplementi annuali.

Le monografie specifiche e generali così come gli altri testi della Farmacopea ai quali si fa riferimento nelle monografie stesse sono obbligatori nei territori dei 37 Stati Membri, inclusa la stessa Unione Europea, tutti firmatari della Convenzione. Questo significa che la Farmacopea Europea detiene una posizione particolare nel contesto regolatorio dell'Unione Europea in quanto il riferimento fatto ai suoi testi nelle Direttive del Consiglio Europeo conferisce agli stessi testi un carattere obbligatorio. Oltre ai 37 Stati firmatari della Convenzione per una Farmacopea Europea c'è anche un cospicuo numero (20) di Paesi "osservatori". Conseguentemente gli standards di qualità elaborati dalla Farmacopea Europea hanno, in gran parte del globo, un impatto sulla qualità dei prodotti medicinali e delle sostanze per uso farmaceutico.

Sin dalla 5^a Edizione (2004) la versione cartacea della Farmacopea Europea è stata pubblicata, per motivi pratici, in due volumi. La 6^a Edizione, in vigore dal 1° gennaio 2008, sarà completata con otto supplementi, tre per anno, in modo da permettere una rapida applicazione delle decisioni prese durante le varie sessioni della Commissione di Farmacopea Europea. Questo modo di pubblicazione così flessibile ha permesso di ridurre l'intervallo di tempo tra l'adozione delle monografie da parte della Commissione e la loro pubblicazione ed entrata in vigore ufficiale. Ciò è stato possibile anche grazie alla disponibilità di quei Paesi che traducono nelle loro lingue nazionali le monografie europee pubblicate solo nelle lingue inglese e francese. La Farmacopea Europea è ovviamente disponibile anche in CD-ROM ed elettronicamente "online". La versione elettronica è sempre più popolare e sembra indicare il modo preferito dagli utilizzatori per consultare la Farmacopea. La pubblicazione triennale iniziata con la 4^a Edizione continua con la presente edizione e sarà man-

tenuta anche per il prossimo futuro. Questo processo permette di assicurare una stabilità ed una flessibilità di pubblicazione ottimale mentre la consultazione dei testi rimane comoda all'utente.

L'elaborazione e l'approvazione delle monografie e di altri testi si effettua con un processo fluido efficiente e trasparente, basato sulla cooperazione scientifica tra i membri dei vari Gruppi di Esperti e Gruppi di Lavoro designati dalla Commissione della Farmacopea Europea, organo direttivo della Farmacopea Europea. Questi esperti danno del loro tempo, competenza ed esperienza per la messa a punto, a disposizione del pubblico, di standards di qualità ai più alti livelli e continuamente revisionati alla luce della evoluzione scientifica e tecnica. Questa cooperazione tra gli esperti dell'industria, dell'università, delle autorità regolatorie e dei laboratori ufficiali di controllo rappresenta "the pinnacle" della collaborazione scientifica per la messa a punto, al più alto livello, di testi tecnici. La presente edizione contiene più di 2000 monografie, ciascuna delle quali è stata il frutto di un difficile processo di elaborazione e/o revisione diretto, in ultima istanza, dalla Commissione e soggetto ad una estesa e trasparente consultazione pubblica mediante *Pharমেuropa*, la pubblicazione trimestrale dell'EDQM. Inoltre le specifiche tecniche adottate dalla Commissione sono basate su di un processo decisionale unanime; ogni Stato Membro della Commissione ha, qualora lo ritenga opportuno, il diritto di veto.

Gli otto Paesi fondatori della Convenzione realizzarono, nel 1964, che la fabbricazione e gli standards per il controllo della qualità dei prodotti medicinali presenti nel mercato europeo dovevano essere armonizzati per motivi di salute pubblica e per facilitare la libera circolazione degli stessi prodotti medicinali. Ma il mondo farmaceutico è cambiato radicalmente dal 1964 ed il mercato dei prodotti medicinali è divenuto globale. Di conseguenza sin dal 1990 ha avuto inizio un processo di armonizzazione internazionale delle tre maggiori farmacopee del mondo, la Farmacopea Europea, la Farmacopea Giapponese e la Farmacopea degli Stati Uniti, quando il "*Pharmacopoeial Discussion Group*" fu istituito per coordinare il lavoro di armonizzazione. Nei primi anni il lavoro è stato focalizzato sulla armonizzazione di monografie relative ad eccipienti largamente utilizzati. In assenza di metodi generali armonizzati questo processo è risultato difficile; un modo per accelerare i lavori è stato trovato mediante l'armonizza-

II. Prefazione alla VI edizione della farmacopea europea

zione così detta “per elementi”: è cioè possibile che in un testo siano presenti saggi non pienamente armonizzati non essendo tale il relativo metodo generale. Quando una monografia è armonizzata vengono fornite dettagliate informazioni nella monografia stessa e nel capitolo generale 5.8. *Armonizzazione delle Farmacopee* dedicato proprio alla informazione concernente l’armonizzazione internazionale. Nel corso di questi ultimi anni sono stati fatti significativi progressi nella armonizzazione di un gran numero di metodi generali specie sotto l’impulso della “International Conference on Harmonisation” (ICH) con particolare riferimento alla linea guida ICHQ6A relativa alla definizione delle specifiche. L’introduzione nella Farmacopea di metodi generali armonizzati, come ad esempio quello relativo alle specifiche delle forme farmaceutiche, è una decisione che richiede comunque grande cautela in quanto le specifiche in questione debbono essere soddisfatte sia dai prodotti medicinali già in commercio che dai nuovi prodotti in fase di registrazione.

La Commissione della Farmacopea Europea supporta fortemente l’iniziativa della armonizzazione internazionale. Non è tanto il lavoro di armonizzazione come tale che dà luogo alla maggior parte dei problemi quanto la messa in vigore dei testi armonizzati che deve essere decisa in accordo con le autorità regolatorie europee. In questo contesto si sono rafforzati costantemente nel corso degli anni i rapporti tra la Commissione di Farmacopea Europea e le autorità regolatorie europee, le industrie farmaceutiche e le loro associazioni.

La Farmacopea Europea ha un ruolo statutario particolare nel sistema legislativo dei prodotti medicinali dell’UE che permette un rafforzamento del processo di armonizzazione nonostante il fatto che essa abbia un’udienza che oltrepassa le frontiere della stessa UE.

Il crescente numero di monografie sulle sostanze per uso farmaceutico e la necessità di mantenerle aggiornate induce un incremento del programma di lavoro dei Gruppi di Esperti. Continua a sussistere la carenza di esperti, aventi accesso a laboratori, come membri permanenti dei Gruppi di Esperti o come specialisti ad hoc. Oltre alla riorganizzazione del sistema dei Gruppi di Esperti e Gruppi di Lavoro sono state portate a quattro le procedure di lavoro per la elaborazione delle monografie.

- *Procedura 1*, la tradizionale elaborazione fatta dai Gruppi di Esperti.
- *Procedura 2*, adattamento delle monografie nazionali.
- *Procedura 3*, si applica alle sostanze prodotte da un solo fabbricante e generalmente coperte da un brevetto prossimo alla scadenza. Il fabbricante e le autorità nazionali di farmacopea del paese in cui è fabbricata la sostanza mettono a punto una bozza preliminare della monografia e controllano speri-

mentalmente le specifiche. La bozza del testo viene rivista da un Gruppo di Lavoro e quindi sottoposta, con la procedura usuale, ad inchiesta pubblica.

- *Procedura 4*, una versione modificata della Procedura 3, introdotta dalla Commissione nel 2002 per prolungarne il processo. La procedura 4 si attua sulla base di una stretta collaborazione tra il fabbricante della sostanza e l’EDQM; questi elaborano una bozza di monografia, le cui specifiche sono verificate sperimentalmente dai laboratori dell’EDQM, che viene quindi sottoposta ad inchiesta pubblica. E’ stato costituito un Gruppo di Lavoro che supervisiona questo processo e prepara i progetti di monografie nei modi usuali ma con la possibilità di avere una collaborazione diretta tra il fabbricante ed i laboratori dell’EDQM per una adeguata messa a punto dei metodi sperimentali. Questo approccio permette una rapida elaborazione di monografie su sostanze ancora sotto brevetto. La collaborazione avvenuta nel corso degli ultimi anni tra innovatori e fabbricanti di tali sostanze attive si è rivelata molto fruttuosa.

Per la 6^a Edizione l’elaborazione delle monografie si effettua secondo le Procedure 1 e 4 in quanto l’adattamento delle monografie nazionali e la Procedura 3 hanno dato largamente i loro frutti; infatti il lavoro fatto nell’ambito di queste due procedure è largamente completato.

Le Direttive europee codificate 2001/82/EC e 2001/83/EC (come emendate), sui prodotti medicinali per uso umano e veterinario, riaffermano il carattere obbligatorio dell’applicazione delle monografie della Farmacopea Europea nell’ambito della preparazione della documentazione per la richiesta dell’autorizzazione per la immissione in commercio dei medicinali. E’ pertanto essenziale che le monografie della Farmacopea Europea vengano costantemente aggiornate per assicurare la loro adeguatezza nei confronti dello sviluppo dei prodotti, del progresso scientifico e delle esigenze regolatorie. Nel settore delle sostanze farmaceutiche attive la Commissione della Farmacopea Europea ha deciso di applicare, per quanto possibile, i principi e la terminologia adottata nella versione revisionata della linea guida ICH Q3A sul controllo delle impurezze (*Impurities in new drug substances*) nelle monografie (sia nuove che già pubblicate) delle sostanze attive. Un cambiamento di terminologia è stato introdotto nella sezione “Impurezze” delle monografie pubblicate a partire dal Supplemento 4.6 dove il termine “impurezze specificate” viene usato per le impurezze che hanno un criterio di accettazione individuale definito. Nella 5^a Edizione è stata pubblicata una revisione della monografia generale “*Sostanze per uso farmaceutico*” (2034) allo scopo di mettere in applicazione i valori soglia riportati nella versione revisionata della linea guida ICHQ3A (R) per la dichiarazione, identificazione e qualificazione delle

impurezze organiche nelle sostanze attive. Sempre per la 5^a Edizione, un nuovo capitolo, 5.10 “*Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico*” è stato elaborato con l'aiuto dei Presidenti dei Gruppi Chimici, di altri esperti della Commissione ed in collaborazione con i Gruppi di Esperti. Il passo successivo è stata la revisione delle monografie per introdurre sistematicamente saggi sulle sostanze correlate ed una lista delle “impurezze specificate” e delle “altre impurezze rivelabili”. Le monografie contenenti ancora un saggio sulle sostanze correlate basato sulla cromatografia su strato sottile (TLC) sono in corso di revisione ed il lavoro continuerà nei prossimi anni. Si spera che tali revisioni possano essere portate a termine durante la pubblicazione della 6^a Edizione. Nel frattempo gli utilizzatori della Farmacopea debbono far riferimento al capitolo generale 5.10 sul controllo delle impurezze per l'interpretazione delle monografie pubblicate in passato con uno stile che è stato cambiato secondo quanto sopra descritto. Inoltre gli utilizzatori possono trovare informazioni sui cromatogrammi rappresentativi, reattivi e colonne utilizzate nel contesto dell'elaborazione delle monografie mediante la base di dati “*Knowledge*” dell'EDQM.

L'obiettivo dei lavori di revisione è quello di assicurare che i saggi delle sostanze correlate e la lista delle impurezze riflettano adeguatamente la purezza delle sostanze farmaceutiche autorizzate per il mercato europeo. Tale obiettivo non può essere raggiunto senza una stretta collaborazione con le autorità di registrazione e senza uno scambio di informazioni sulle specifiche delle impurezze. Al riguardo è stata istituita una procedura di cooperazione con il Gruppo di Lavoro Qualità del CHMP/CVMP (EMA) che ha contribuito ad assicurare la validità delle monografie. Anche la Certificazione di conformità alle monografie della Farmacopea Europea può costituire una valida sorgente di informazioni sulla purezza delle sostanze per uso farmaceutico. Tale procedura è, comunque, confidenziale e come tale sarà mantenuta. Nel caso in cui è presente una nuova impurezza tale da richiedere la revisione della monografia, ciò può essere fatto solo quando il fabbricante accetta di fornire al pertinente Gruppo di Esperti le informazioni necessarie per la revisione stessa.

Sin dalla 5^a Edizione della Farmacopea Europea, un certo numero di monografie relative ad eccipienti contengono una sezione non obbligatoria relativa alle caratteristiche correlate con la funzionalità (FRCs). Lo scopo di questa sezione è quello di fornire agli utilizzatori una lista di caratteristiche fisiche e fisico-chimiche cruciali per le abituali utilizzazioni dell'eccipiente in questione e di descrivere i metodi generali da mettere in opera per valutare tali caratteristiche. La sezione non specifica dei criteri di accettazione per le proprietà in questione; questo aspetto è generalmente lasciato al fabbricante come una opzione per l'etichettatura e, qua-

lora tali criteri siano specificati, i loro valori sono solamente indicativi. Questa evoluzione è conforme con l'obiettivo che si è posta la Commissione della Farmacopea Europea di elaborare monografie (ed altri testi) appropriate alle necessità delle autorità regolatorie e dei fabbricanti di materie prime e prodotti medicinali. L'intento è quello di fornire ai fabbricanti di eccipienti ed ai fabbricanti di prodotti medicinali una “lingua comune” che faciliti la definizione delle specifiche proprie di ciascun prodotto e di fornire alle autorità regolatorie dati ottenuti mediante metodi che sono stati oggetto di una valutazione indipendente. Nel corso degli ultimi tre anni la Commissione di Farmacopea Europea ha sviluppato questo lavoro introducendo sezioni di FRCs nelle monografie degli eccipienti disponibili con differenti qualità “fisiche”. L'introduzione del concetto FRCs presuppone che i corrispondenti metodi generali siano presenti nella Farmacopea. La Commissione di Farmacopea Europea ha conseguentemente istituito un Gruppo di Lavoro sulle FRCs per valutare l'opportunità di disporre di metodi generali per il controllo di queste proprietà e di collaborare con il Gruppo di Lavoro che tratta i metodi di caratterizzazione delle polveri.

L'elaborazione dei necessari metodi di analisi, per esempio nel settore della caratterizzazione delle polveri, è egualmente uno degli obiettivi dell'armonizzazione internazionale tra le farmacopee.

Inoltre un capitolo generale sulle FRCs è stato elaborato e pubblicato in *Pharmeuropa* per includerlo nella 6^a Edizione.

Un altro capitolo generale, relativo alla sicurezza virale, è stato introdotto nella Farmacopea Europea al fine di sottolineare la necessità, per tutte le sostanze di origine umana o animale, di dimostrare, mediante un minuzioso controllo delle materie prime e delle condizioni di fabbricazione, l'assenza del rischio di contaminazione virale. Nel portare a termine il lavoro di preparazione di questo capitolo generale, l'EDQM ha apprezzato la collaborazione dell'Agenzia Europea dei Medicamenti (EMA) per il suo sostanziale decisivo contributo. Questo capitolo generale (5.1.7), pubblicato nell'ultimo supplemento della 5^a Edizione, pone l'enfasi sull'importanza di effettuare una valutazione del rischio sulla sicurezza virale dei materiali di origine umana ed animale. A sua volta un riferimento a questo capitolo generale è stato introdotto, al fine di rinforzarne l'impatto, in un certo numero di monografie generali: allergeni, estratti, immunosieri, anticorpi monoclonali, prodotti da tecnologie di DNA ricombinante, vaccini e sostanze per uso farmaceutico.

Durante il 2005, l'EDQM ha organizzato un simposio sulle medicine della tradizione cinese (e di altre tradizioni) con l'obiettivo di valutare la possibilità di elaborare standard di qualità per questi prodotti e sviluppare un nuovo ruolo, in questo settore, della Farmacopea

II. Prefazione alla VI edizione della farmacopea europea

Europea. Sulla base delle informazioni derivate da questo seminario, è stato deciso di chiedere ai due Gruppi di Esperti (Gruppi 13A e 13B) che lavorano sulle droghe vegetali di preparare dei progetti di monografie sulla base delle informazioni, disponibili in alcuni Stati Membri, derivanti da monografie nazionali, già presenti o in preparazione, su tali sostanze ed anche a seguito della positiva collaborazione intrapresa con le autorità della Farmacopea Cinese. Le prime monografie di sostanze utilizzate nella medicina tradizionale cinese sono state pubblicate nella 6^a Edizione e si spera che molte di più lo saranno presto a supporto della crescente importanza di una regolamentazione di tali sostanze e dei loro prodotti nel mercato europeo.

Anche il lavoro sui prodotti medicinali omeopatici è progredito negli ultimi tre anni; in particolare si è raggiunto un accordo per incorporare nella Farmacopea Europea capitoli specifici relativi a metodi di fabbricazione omeopatica, elaborati sulla base delle informazioni contenute nelle diverse farmacopee omeopatiche esistenti in Europa. A seguito di questo progresso è stato istituito un nuovo Gruppo di Lavoro sui metodi di fabbricazione omeopatica. Gruppo che lavorerà in stretta collaborazione con il Gruppo di Lavoro sui Prodotti Omeopatici in un rinnovato sforzo per sviluppare significativi standards per tali prodotti. Ancora una volta c'è stata una stretta collaborazione tra Autorità Regolatorie dell'UE e la Farmacopea per la realizzazione di questi obiettivi.

I progressi realizzati dalla Commissione di Farmacopea Europea nel corso degli ultimi anni non sarebbero stati fattibili senza la partecipazione del gran numero di esperti provenienti dall'industria, università ed autorità nazionali che hanno dedicato tempo e competenza ai lavori dei Gruppi di Esperti e Gruppi di Lavoro. La Commissione è grata a tutti questi esperti che hanno dato il loro contributo su base volontaria. La Commissione è egualmente riconoscente ai Presidenti dei Gruppi che hanno la responsabilità di guidare il lavoro e portarlo a termine entro ristretti limiti di tempo. Si ringraziano i Presidenti per il loro contributo ai lavori dei Gruppi e per la loro assistenza e consulenza alla Commissione stessa. Il lavoro della Commissione della Farmacopea Europea è anche totalmente dipendente dall'efficienza del Segretariato il cui ruolo è duplice:

- ottenere e gestire tutte le informazioni e la documentazione necessarie ai lavori dei Gruppi di Esperti, Gruppi di Lavoro e della Commissione stessa,
- effettuare lavori di laboratorio a supporto degli esperti e garantire la disponibilità di standard di riferimento indispensabili per procedere alla esecuzione dei saggi e verifica delle specifiche riportate nelle monografie.

La pubblicazione dei diversi volumi della Farmacopea così come quella della versione elettronica è resa possibile grazie alla professionalità, dedizione e lavoro di tutto il personale del Segretariato dell'EDQM.

A seguito del crescente contenuto della Farmacopea Europea e del suo adeguamento al processo regolatorio, l'uso della Farmacopea stessa e la sua interpretazione sono divenuti relativamente complessi.

Il giornale della Farmacopea Europea, *Pharmeuropa*, costituisce una valida fonte di informazione. Capitoli generali rivolti all'informazione continueranno ad essere pubblicati nella 6^a Edizione come risultato del processo di armonizzazione internazionale ed anche a seguito della decisione presa dalla Commissione di pubblicare nuovi capitoli di questo tipo. Da qualche anno l'EDQM offre corsi di formazione agli utilizzatori della Farmacopea. La Commissione è grata all'EDQM per aver preso questa iniziativa che contribuisce al rafforzamento dello stesso ruolo della Farmacopea e dei legami con gli utilizzatori. Tali legami sono rafforzati anche dai frequenti seminari e conferenze organizzati sempre dall'EDQM. Questa attività è molto apprezzata dalla Commissione in quanto offre, ai membri della Commissione stessa, l'opportunità di scambiare punti di vista e di discutere sui recenti sviluppi con gli esperti dell'industria, dell'università e delle autorità regolatorie. Il sito internet dell'EDQM costituisce un'altra preziosa fonte di informazione sul programma di lavoro e le altre attività della Commissione, dei suoi Gruppi e dello stesso EDQM, così come la base di dati "Knowledge" ed il servizio in linea su domande/risposte "Help Desk". Durante gli ultimi tre anni ho avuto l'onore ed il privilegio di servire la Commissione della Farmacopea Europea in qualità di Presidente eletto. L'impegno è stato oneroso ma molto qualificante grazie all'apporto dei chiarimenti ricevuti sui numerosi aspetti di lavoro insiti nella preparazione degli standard di qualità contenuti nei testi della Farmacopea. La stretta relazione che, in Europea, lega i processi regolatori con gli standard della Farmacopea costituisce un fattore essenziale per la protezione della sanità pubblica. Desidero ringraziare tutti i membri della Commissione della Farmacopea Europea per il loro supporto e spirito di collaborazione apportato sia durante che al di fuori delle sessioni della Commissione stessa. Voglio altresì rendere omaggio all'eccellente lavoro dei due Vice-Presidenti della Commissione, della Direttrice dell'EDQM e del Segretario della Commissione grazie ai quali abbiamo potuto collaborare efficacemente in seno al Presidio per guidare i lavori della Commissione. Ringrazio sinceramente il Presidio per la saggezza e per il supporto ricevuto nel corso del mio mandato di Presidente.

Il personale dell'EDQM mi è stato di grande aiuto ed il lavoro fatto non sarebbe stato possibile senza la loro pazienza, il loro duro lavoro e la loro professionalità;

II. Prefazione alla VI edizione della farmacopea europea

ho grande riconoscenza per la loro collaborazione ed amicizia dimostratami specie nell'esercizio della funzione di Presidente.

Infine voglio ringraziare sinceramente Dr. Agnes Artiges, Direttrice dell'EDQM, ed il suo vice Mr. Peter Castle, che ha le funzioni di Segretario della Commissione di Farmacopea Europea.

La vostra collaborazione, che apprezzo da lunga data, mi è stata particolarmente preziosa nel corso dei tre

anni del mio mandato; voglio pertanto esprimere a tutti e due i miei sinceri ringraziamenti per il loro supporto alla Presidenza e per il formidabile lavoro che portano avanti per lo sviluppo della Farmacopea Europea e del suo ruolo nel sistema regolatorio europeo.

*Dr. J. Michael Morris
Presidente della Commissione
della Farmacopea Europea*

III. INTRODUZIONE ALLA VI EDIZIONE DELLA FARMACOPEA EUROPEA

La Farmacopea Europea viene preparata sotto gli auspici del Consiglio d'Europa, a seguito della applicazione della *Convenzione sulla elaborazione di una Farmacopea Europea* (Serie dei Trattati Europei n. 50) come emendata dal Protocollo alla Convenzione (Serie dei Trattati Europei n. 134), firmata dai Governi dell'Austria, del Belgio, della Bosnia-Erzegovina, della Bulgaria, di Cipro, della Croazia, della Danimarca, dell'Estonia, della Finlandia, della Francia, della Germania, della Grecia, dell'Irlanda, dell'Islanda, dell'Italia, della Lettonia, della Lituania, del Lussemburgo, di Malta, di Montenegro, della Norvegia, dei Paesi Bassi, della Polonia, del Portogallo, del Regno Unito di Gran Bretagna e dell'Irlanda del Nord, della Repubblica Ceca, della "ex Repubblica Iugoslava di Macedonia", della Repubblica Slovacca, della Romania, della Serbia, della Slovenia, della Spagna, della Svezia, della Svizzera, della Turchia, dell'Ungheria e dalla Unione Europea.

La *Commissione di Farmacopea Europea* ("la Commissione"), che ha la responsabilità della preparazione della Farmacopea, è costituita conformemente alle disposizioni dell'articolo 5 della sopra menzionata Convenzione. E' composta dalle delegazioni nominate dalle Parti Contraenti. Ogni delegazione è formata da non più di tre membri scelti per la loro competenza negli argomenti trattati dalla Commissione.

Sono ammessi alle Sessioni della Commissione, in accordo con le Regole di Procedura, osservatori provenienti da Stati non-Membri della Convenzione e da organizzazioni internazionali. Al momento sono ammessi osservatori da: Albania, Algeria, Australia, Brasile, Canada, Cina, Federazione Russa, Georgia, Israele, Kazachistan, Madagascar, Malesia, Marocco, Senegal, Siria, Stati Uniti d'America, Tunisia, Ucraina e dalla Organizzazione Mondiale della Sanità.

La Convenzione può essere sottoscritta dai Paesi europei; lo "stato di osservatore" è un mezzo che permette, ai Paesi europei che hanno l'intenzione di sottoscrivere la Convenzione, di familiarizzarsi con i metodi di lavoro della Commissione.

La Commissione riconosce che a seguito delle globalizzazioni della catena di approvvigionamento delle sostanze per uso farmaceutico sono essenziali relazioni con Paesi non-europei. Lo "stato di osservatore" per i Paesi non europei serve a promuovere tali relazioni facilitando la cooperazione e lo scambio di informazioni e di documenti di lavoro.

Le funzioni della Commissione definite dall'articolo 6 della Convenzione emendata dal Protocollo sono:

Articolo 6

"Con il vincolo di quanto disposto dall'articolo 4 della presente Convenzione, le funzioni della Commissione saranno:

- (a) determinare i principi generali applicabili alla elaborazione della Farmacopea Europea;
- (b) stabilire i relativi metodi di analisi;
- (c) predisporre la preparazione delle monografie da includere nella Farmacopea Europea ed adottarle;
- (d) raccomandare la definizione dei limiti di tempo entro i quali le sue decisioni di carattere tecnico, relative alla Farmacopea Europea, dovranno essere applicate nei territori delle Parti Contraenti."

In accordo con i termini della Convenzione, le Parti Contraenti si impegnano ad adottare le necessarie misure per assicurare che le monografie della Farmacopea Europea diventino norme ufficiali applicabili nei loro rispettivi territori.

RUOLO DELLA FARMACOPEA EUROPEA

Il ruolo della Farmacopea Europea è la promozione della salute pubblica mediante la messa a punto di norme comuni riconosciute e che devono essere utilizzate dal personale sanitario e da chi è coinvolto con la qualità dei medicinali. Tali norme o specifiche debbono essere appropriate e costituire, per i pazienti e consumatori, la garanzia in materia di sicurezza d'uso dei medicinali. La loro esistenza:

- facilita la libera circolazione dei prodotti medicinali in Europa;
- assicura la qualità dei prodotti medicinali e dei loro componenti importati o esportati dall'Europa.

Le monografie e gli altri testi della Farmacopea Europea vengono elaborati in modo da rispondere alle esigenze:

- delle autorità regolatorie;
- di chi è coinvolto nel controllo della qualità dei prodotti medicinali ed i loro componenti;
- dei produttori delle materie prime e dei prodotti medicinali.

La Farmacopea Europea è largamente usata a livello internazionale. E' intenzione della Commissione lavorare sempre più a contatto con tutti gli utilizzatori della

III. Introduzione alla VI edizione della farmacopea europea

Farmacopea per poter meglio soddisfare alle loro esigenze e facilitare la loro collaborazione. A tal fine si stanno mettendo in atto procedure più idonee per ottenere informazioni concernenti la priorità di elaborazione di nuove monografie ed il modo di migliorare la qualità della Farmacopea.

SEGRETARIATO TECNICO E LABORATORIO

La Commissione ha un Segretariato Tecnico, situato a Strasburgo, con personale scientifico ed amministrativo. Il Laboratorio della Farmacopea Europea, parte integrante del Segretariato, ha, tra gli altri impegni, la responsabilità della definizione e verifica di tutte le sostanze di riferimento, preparazioni e spettri necessari per le monografie della Farmacopea.

Il Segretariato Tecnico ed il laboratorio sono dipartimenti del Direttorato Europeo per la Qualità dei Medicinali (EDQM) del Consiglio d'Europa.

PRINCIPI GENERALI

Le regole generali per l'interpretazione dei testi della Farmacopea sono riportate nelle Prescrizioni Generali. Devono essere tenute presenti anche le seguenti informazioni.

I principi generali che si applicano per l'elaborazione delle monografie della Farmacopea Europea sono definiti in guide tecniche disponibili sul sito web dell'EDQM. I principi applicati vengono rivisti periodicamente senza però una sistematica retroattività talché monografie già pubblicate possono non seguire le ultime raccomandazioni; tuttavia le monografie vengono revisionate qualora emerga una questione avente un impatto sulla salute pubblica.

Le procedure per i saggi e le determinazioni quantitative pubblicate nelle singole monografie sono state convalidate secondo la pratica in atto al tempo della loro elaborazione e per lo scopo per il quale erano state proposte. La convalida da parte dell'analista non è richiesta, salvo indicazione contraria.

È noto che i capitoli generali vengono utilizzati anche al di fuori delle monografie della Farmacopea; in tali circostanze è raccomandato agli utilizzatori di consultare la *Guida Tecnica* che riporta informazioni dettagliate sull'applicazione di molti metodi generali.

Monografie generali e specifiche.

Le norme della Farmacopea Europea sono costituite da monografie generali e specifiche. La elaborazione di monografie generali si è sviluppata specie negli anni recenti al fine di fornire norme che permettano di raggiungere al meglio gli obiettivi sopra descritti e di soddisfare alle esigenze degli utilizzatori. A partire dalla 4^a Edizione lo scopo delle monografie generali è stato esteso, salvo indicazioni contrarie, per coprire i prodotti per i quali non esiste una monografia specifica. In generale la comprensione di una monografia speci-

fica richiede la consultazione contemporanea di una o più monografie generali. Nel caso in cui una sostanza è soggetta alla disposizione di una monografia generale e di una monografia specifica, le due sono complementari. Una monografia specifica può, eccezionalmente, includere una deroga da una o più disposizioni della monografia generale. Poiché dal punto di vista pratico non è possibile includere in ciascuna monografia specifica i riferimenti alle monografie generali applicabili o potenzialmente applicabili a tale monografia specifica, si è deciso di eliminare ogni riferimento tranne i casi in cui è necessario evitare ambiguità. Una lista di monografie generali viene così inclusa in ogni nuova edizione o supplemento della farmacopea al fine di aiutare gli utilizzatori ad identificare quelle che debbono essere consultate insieme ad una singola monografia specifica.

Uso di animali. In accordo con la *Convenzione Europea sulla protezione degli animali usati per scopi sperimentali o scientifici (1986)*, la Commissione si è impegnata a ridurre nei saggi di farmacopea l'uso di animali, quando possibile; incoraggia inoltre quelli che sono coinvolti con il suo lavoro a cercare procedure alternative.

Idrati. Con la pubblicazione della 4^a Edizione è stato cambiato il modo di definire i titoli delle monografie per le forme idrate. Per tutte le monografie pubblicate per la prima volta nella 4^a Edizione o edizioni successive, il grado di idratazione, se del caso, è indicato nel titolo della monografia. Nelle precedenti edizioni il grado di idratazione veniva indicato solo nei casi di esistenza di più forme. Se per una data sostanza viene pubblicata una monografia per la forma anidra ed una per la forma idrata, il termine "anidro" verrà incluso nel titolo della forma corrispondente. Per evitare ai produttori un non necessario lavoro di rietichettatura dei prodotti, la citata procedura non verrà applicata retrospettivamente alle monografie già pubblicate a meno di ragioni connesse a misure di salute pubblica, ovvero a motivi di sicurezza, come nel caso di una sostanza contenente una grande quantità di acqua.

Sostanze chirali. Le monografie sulle sostanze chirali che descrivono un particolare enantiomero contengono un saggio per confermare la purezza enantiomerica basato, generalmente, sulla misurazione della rotazione ottica. Le monografie che descrivono i racemi sono, al riguardo, eterogenee in quanto, durante la 3^a Edizione, ci sono stati cambiamenti nella gestione dell'argomento. Le vecchie monografie, infatti, non sempre hanno un saggio per mostrare il carattere racemico. Durante il corso della 3^a Edizione in tutte le monografie sui racemi è stato incluso un saggio per il carattere racemico, basato sulla misurazione della rotazione ottica. Quando però è stato mostrato che in molti casi un saggio basato sulla rotazione ottica, anche con

stretti limiti intorno ad una rotazione pari a zero, poteva non essere sufficientemente discriminante a causa della bassa rotazione ottica specifica degli enantiomeri, la Commissione ha cambiato atteggiamento. Un saggio per il carattere racemico, basato sulla rotazione ottica, viene ora incluso solo quando la conoscenza del valore numerico della rotazione ottica specifica degli enantiomeri indica che tale saggio è discriminante in termini di purezza enantiomerica. Qualora altre tecniche, come ad esempio il dicroismo circolare, possono servire allo scopo, esse saranno prescritte in sostituzione della rotazione ottica.

Polimorfismo. Quando una sostanza può dar luogo al polimorfismo, ciò è normalmente riportato nella sezione Caratteri. In generale, le monografie non specificano una forma cristallina particolare; eccezionalmente, in poche monografie, viene specificata la forma cristallina richiesta, per esempio, mediante una identificazione per spettrofotometria di assorbimento nell'infrarosso nella quale viene detto che lo spettro deve essere registrato con la sostanza in fase solida senza ricristallizzazione e che la sostanza chimica di riferimento fornita è della forma cristallina richiesta. Tuttavia, per le sostanze che non facciano parte di questi casi eccezionali, può essere necessario, per la loro utilizzazione in certe forme farmaceutiche, che il fabbricante utilizzi una forma cristallina particolare. L'indicazione riportata nella sezione Caratteri ha per obiettivo quello di segnalare agli utilizzatori la necessità di valutare questo aspetto *durante lo sviluppo di una forma farmaceutica*. A tale riguardo conviene consultare egualmente la monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* ed il capitolo 5.9 *Polimorfismo*.

Specificità dei dosaggi. Nella elaborazione delle monografie sulle sostanze chimiche attive, l'approccio generalmente raccomandato dalla Commissione è quello di permettere un controllo delle impurezze (impurezze di processo e prodotti di degradazione) mediante una sezione Saggi accuratamente definita, contenente metodi indicativi della stabilità, più che mediante un metodo di dosaggio specifico per il principio attivo. E' perciò l'insieme delle specifiche di una monografia che permette di garantire che il prodotto è di qualità adeguata per tutto il suo periodo di utilizzazione.

Impurezze. A seguito di una revisione della politica sul controllo delle impurezze è stato incluso nella 5^a Edizione un nuovo capitolo generale 5.10 *Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico*. Tale capitolo, insieme alla monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*, descrive la politica del controllo delle impurezze nelle monografie specifiche e fornisce chiarimenti sul modo di interpretare i limiti nel saggio delle sostanze correlate.

L'attuale politica della Commissione è quella di includere nelle monografie saggi quantitativi per le impurezze.

Le vecchie monografie elaborate prima della adozione di tale politica costituiscono l'oggetto di uno speciale programma di revisione per introdurre metodi quantitativi. Quando una monografia non è in linea con la politica generale, la conformità alla monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* implicherà di norma che le disposizioni delle monografie specifiche debbano essere integrate. Tranne quando l'applicazione della monografia lo richiede, nel qual caso in nome della impurezza è seguito dall'acronimo SCR, le impurezze non sono fornite come campioni di riferimento né possono essere messe a disposizione per fini sperimentali.

Colonne cromatografiche. Con l'intento di aiutare gli utilizzatori vengono presentate sul sito web (www.edqm.eu) (vedi anche sotto "Base di dati di Knowledge") delle informazioni sulle colonne cromatografiche utilizzate soddisfacentemente nella elaborazione delle monografie e dei metodi generali. Informazioni sulle apparecchiature e sui reattivi vengono anche date qualora ciò sia considerato utile. L'informazione è data senza alcuna garanzia e non implica che altre colonne, apparecchiature o reattivi non siano egualmente adeguate.

Solventi residui. I requisiti relativi ai solventi residui sono riportati nella monografia *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* e nel capitolo generale 5.4 *Solventi residui*.

Pertanto, tutte le sostanze attive e gli eccipienti sono soggetti al relativo controllo dei solventi residui anche quando nessun saggio è specificato nella singola monografia. I requisiti riportati sono stati armonizzati con la linea guida ICH su tale argomento.

Dispositivi medici. Monografie relative ad articoli considerati come dispositivi medici, sono state incluse in tutte le edizioni della Farmacopea. Per gli Stati Membri dell'Unione Europea è in vigore una direttiva che definisce un quadro unificato per la normalizzazione dei dispositivi medici. A seguito di un accordo tra le varie parti coinvolte, la Commissione ha deciso che le monografie sui dispositivi medici saranno soppresse non appena le norme previste dalla direttiva verranno elaborate. Le specifiche incluse nella sezione sui contenitori saranno adattate in modo da tener conto delle future norme sviluppate nell'ambito della direttiva. Le monografie sui fili di sutura sono mantenute nella Farmacopea; esse sono state modificate per renderle conformi alle disposizioni della direttiva e debbono ora essere considerate come norme del tipo previsto dalla direttiva stessa. Questo adattamento delle monografie ha richiesto la soppressione di alcune monografie di specifici tipi di suture in favore di un approccio più generale.

III. Introduzione alla VI edizione della farmacopea europea

Preparazioni omeopatiche. Una monografia sui metodi di preparazione degli “stocks” omeopatici, monografie generali sulle preparazioni omeopatiche, tinture madri per preparazioni omeopatiche, droghe vegetali per preparazioni omeopatiche e monografie specifiche su materie prime e “stocks” per preparazioni omeopatiche sono incluse in una sezione separata della farmacopea. È sottinteso che quando la stessa sostanza viene usata in preparazioni diverse, omeopatiche e non omeopatiche, si deve far riferimento alla monografia presente nella sezione principale, non omeopatica, della farmacopea.

Caratteristiche correlate alla funzionalità. A seguito di una decisione politica della Commissione viene data una crescente attenzione alle caratteristiche correlate alla funzionalità degli eccipienti; infatti nelle monografie è stata introdotta una nuova sezione di informazioni. I contenuti di questa sezione non costituiscono requisiti obbligatori in quanto le caratteristiche possono essere rilevanti per un particolare uso di un eccipiente. Le caratteristiche possono essere presentate in maniere diverse:

- citando unicamente il nome;
- citando il nome ed un appropriato metodo di analisi, preferibilmente uno incluso nella Farmacopea;
- citando il nome, un appropriato metodo di analisi, dei valori tipici o delle tolleranze tipiche rispetto al valore dichiarato; questi valori o tolleranze sono usati per definire una appropriata qualità di un eccipiente destinato ad una utilizzazione specifica.

In tutti i casi, il metodo ed il criterio di accettazione non sono requisiti obbligatori ma vengono dati a titolo di informazione. La decisione di controllare una caratteristica correlata alla funzionalità di un eccipiente spetta al produttore farmaceutico; viene presa tenendo conto della formulazione del prodotto per il quale l'eccipiente sarà usato; il metodo di analisi, i criteri di accettazione e le tolleranze sono determinati su una base contrattuale tra l'utilizzatore ed il fornitore dell'eccipiente.

L'obiettivo della Commissione è quello di sottolineare la necessità di una adeguata attenzione alle caratteristiche correlate alla funzionalità e di promuovere l'armonizzazione dei metodi utilizzati per la loro verifica.

Revisione redazionale delle monografie. Durante la pubblicazione della 3^a Edizione è stato adottato un nuovo e migliorato stile editoriale, particolarmente per le monografie dei prodotti chimici organici. Le monografie nuove e quelle estesamente revisionate sono state generalmente pubblicate con il nuovo stile nella 4^a e 5^a

Edizione. Durante la pubblicazione della 5^a Edizione un nuovo e migliorato stile redazionale è stato adottato per le monografie sui vaccini veterinari.

Per la 6^a Edizione, un gran numero di monografie è stato convertito nel nuovo stile al fine di ottenere la massima uniformità nella presentazione editoriale. La conversione al nuovo stile non influenza il contenuto tecnico delle monografie e pertanto i cambiamenti redazionali non sono stati evidenziati mediante segni a margine.

Brevetti. La descrizione, nella Farmacopea, di un articolo soggetto a protezione brevettuale non conferisce né implica alcuna autorizzazione all'uso di tali brevetti da parte di persone diverse dai proprietari dei brevetti in questione.

CAS Registry Number. Nella 6^a Edizione, i numeri CAS sono stati inclusi nelle monografie al fine di fornire una utile informazione agli utilizzatori. Precedentemente questi numeri venivano inseriti solo per i reattivi in quanto utili per identificare i fornitori. Il CAS Registry Number è un marchio depositato dalla American Chemical Society.

Specie protette. Le monografie riguardanti droghe vegetali possono far riferimento a materiale ottenuto da specie di piante protette. L'inclusione di queste monografie non porta alcun pregiudizio alle disposizioni derivanti da leggi nazionali ed internazionali sulla protezione di queste specie.

MONOGRAFIE SU PREPARAZIONI FARMACEUTICHE

L'attuale politica della Commissione prevede che non vengano elaborate le monografie di preparazioni finite ad eccezione di quelle sugli immunosieri per uso umano e per uso veterinario, di alcune preparazioni quali le preparazioni d'insulina, delle preparazioni radiofarmaceutiche e dei vaccini per uso umano e per uso veterinario. Questa politica è stata decisa in quanto:

- le specifiche per una data preparazione vengono approvate dall'autorità competente sulla base di dati provenienti dal lavoro di sviluppo farmaceutico e di studi di stabilità; una unica specifica per la forma farmaceutica di una data sostanza attiva sarà pertanto inappropriata nella maggior parte dei casi;
- le specifiche di una preparazione finita dipendono da fattori connessi alla particolare formulazione e pertanto una norma di qualità obbligatoria

potrebbe ostacolare l'innovazione ed il miglioramento imponendo dei criteri di accettazione contingenti più che essenziali;

L'armonizzazione e la standardizzazione dei prodotti finiti sono state trattate fino ad oggi mediante la elaborazione di monografie generali sulle forme farmaceutiche descriventi gli elementi comuni a tutte le preparazioni che rispondono alla definizione della monografia e mediante l'elaborazione di metodi generali di saggio applicabili ai prodotti finiti. L'inclusione di questi metodi e monografie generali nella Farmacopea forniscono alle autorità competenti e ai produttori una base comune per la preparazione e valutazione delle domande di autorizzazione alla immissione in commercio.

Gli standard di riferimento predisposti per il dosaggio delle sostanze attive e degli eccipienti possono essere adeguati come standard per il dosaggio delle preparazioni solo quando sono soddisfatte le condizioni indicate in 5.12 *Standard di riferimento*.

PROGRAMMA DI LAVORO

Il programma di lavoro viene deciso dalla Commissione.

L'elaborazione di nuovi testi generali e di monografie o la revisione di testi esistenti è approvata ad una delle Sessione della Commissione. In generale quando due Stati Membri propongono la elaborazione di una monografia, la Commissione la aggiunge al programma di lavoro. I cambiamenti al programma di lavoro vengono pubblicati sul sito internet (www.edqm.eu) e su *Pharmeuropa*. Egualmente la stessa informazione viene trasmessa alle associazioni industriali registrate presso il Segretariato ed ai punti di contatto con la farmacopea dei singoli fabbricanti. Le parti interessate vengono invitate a contattare il Segretariato in relazione a quegli aspetti nei confronti dei quali intendono essere coinvolti nel programma di lavoro.

PROCEDURA DI CERTIFICAZIONE

E' stata messa in atto una procedura per la certificazione della adeguatezza delle monografie della Farmacopea per il controllo della qualità di un prodotto ottenuto mediante un dato processo [vedi Comitato di Salute Pubblica (Accordo Parziale) Risoluzione AP-CSP (99) 4 o ogni successiva revisione reperibile presso l'EDQM o sul suo sito web (www.edqm.eu)] a supporto dell'uso delle monografie nelle richieste per l'autorizzazione alla immissione in commercio di un medicinale.

La procedura di certificazione si applica anche alle droghe vegetali, alle preparazioni a base di droghe vegetali ed al rischio da encefalopatia spongiforme trasmissibile

(TSE). I certificati di adeguatezza vengono rilasciati dall'EDQM solo per quelle sostanze prodotte in ambito di una adeguato sistema di qualità. I certificati possono essere rilasciati per le monografie pubblicate. Informazioni dettagliate sul funzionamento di questa procedura sono reperibili presso il Segretariato o sul sito web EDQM. Una lista aggiornata dei certificati concessi è disponibile on-line, sul sito web EDQM; tale lista include anche i certificati annullati o sospesi.

PUBBLICAZIONI

La Farmacopea Europea è disponibile, nella versione inglese e francese, come volume con tre supplementi annuali ed in forma elettronica (internet e CD - ROM). Una versione elettronica in spagnolo è anche disponibile dal luglio 2006.

Pharmeuropa, il Foro della Farmacopea Europea, è pubblicato 4 volte in un anno come supporto per la elaborazione delle monografie e come mezzo di informazione sulla Farmacopea e materie ad essa correlate. *Pharmeuropa Bio*, una pubblicazione recensita dai servizi bibliografici, presenta lavori essenzialmente correlati alla definizione delle preparazioni biologiche di riferimento ed alla convalida dei metodi biologici nell'ambito del Programma di Standardizzazione Biologica dell'EDQM. *Pharmeuropa Scientific Notes*, una pubblicazione recensita dai servizi bibliografici, presenta lavori scientifici su tutti gli aspetti dell'analisi farmaceutica ed altri argomenti di interesse della farmacopea.

Sito Web. Le informazioni sulle attività e su molti altri aspetti della Farmacopea Europea si trovano sul sito web dell'EDQM (www.edqm.eu).

Base di dati Knowledge. Il sito internet dell'EDQM (www.edqm.eu) permette l'accesso ad una base dati contenente differenti tipi di informazioni relative alle monografie e destinate a facilitare la loro utilizzazione. Informazioni sono fornite su:

- colonne cromatografiche utilizzate nell'elaborazione di una monografia;
- fornitori di reattivi ed apparecchi che possono essere difficili da reperire da parte di alcuni utilizzatori;
- lo stato delle monografie (in corso di elaborazione, adottata, pubblicata, in corso di revisione);
- revisione delle monografie su base storica a partire dalla 5^a Edizione;
- altre informazioni utili.

HelpDesk. Da parte degli utilizzatori vengono rivolte all'EDQM numerose richieste di informazioni. Tali

III. Introduzione alla VI edizione della farmacopea europea

richieste debbono essere fatte via l'HelpDesk del sito internet dell'EDQM (www.edqm.eu). L'EDQM tratterà le richieste di informazione connesse all'uso delle monografie della Farmacopea Europea. L'HelpDesk ha la sezione "Frequently Asked Questions" che dovrebbe essere consultata dagli utilizzatori prima di sottoporre qualsiasi richiesta di informazione.

Entrata in vigore. La data di entrata in vigore delle monografie viene fissata da una risoluzione del Comitato di Sanità Pubblica (Accordo Parziale) del Consiglio d'Europa a seguito di una raccomandazione formulata dalla Commissione. Questa data è normalmente di un anno dopo l'adozione e di circa sei mesi dopo la pubblicazione. Quando una monografia deve entrare in vigore ad una data anteriore a quella della successiva pubblicazione della Farmacopea o di un suo supplemento, una Risoluzione del Comitato di Sanità Pubblica riporta l'intero testo che deve entrare in vigore; tale testo viene anche pubblicato, per informazione, su *Pharmeuropa* e sul sito web come parte della Risoluzione.

Programma di revisione. Le monografie e gli altri testi della Farmacopea vengono revisionati, quando necessario, mediante una decisione della Commissione.

Le proposte di revisione sono pubblicate su *Pharmeuropa*.

Le proposte per revisionare le monografie possono essere fatte da una delegazione, dal Presidente della Commissione o dal presidente di un gruppo di esperti. Le richieste di revisione provenienti da altre parti interessate debbono essere fatte via una Autorità di farmacopea nazionale di uno Stato Membro o, se questo non è possibile, debbono essere indirizzate all'EDQM preferibilmente tramite l'HelpDesk. Le proposte per revisionare le monografie debbono essere accompagnate da sufficienti dati che giustifichino la necessità della revisione.

ARMONIZZAZIONE INTERNAZIONALE

La Farmacopea Europea è coinvolta in un processo di armonizzazione con la Farmacopea Giapponese e la Farmacopea degli Stati Uniti mediante una struttura informale denominata *Pharmacopoeial Discussion Group (PDG)*. Le attività sono sviluppate in accordo con quelle della Conferenza Internazionale sulla Armonizzazione (ICH). L'informazione sullo stato dei testi armonizzati viene data nel capitolo 5.8 *Armonizzazione delle Farmacopee* e sulla pagina DDG del sito web dell'EDQM (www.edqm.eu). I capitoli generali armonizzati hanno un preambolo che indica l'intercambiabilità del testo con quello delle altre due farmacopee.

IV. COMMISSIONE PERMANENTE PER LA REVISIONE E LA PUBBLICAZIONE DELLA FARMACOPEA UFFICIALE

(D.M. 9 maggio 2003 modifiche del 18 aprile 2005, 3 febbraio 2006)

LA COMMISSIONE (2003-2007)

Presidente: GARACI prof. Enrico

Vice Presidente: CIGNITTI prof. Maurizio

Segretario: FARINA dr.ssa Anna

Componenti: BROCCIERI dr.ssa Gigliola
CAPPELLI dr.ssa Anna Maria
CIMATTI dott. Uberto
DEL BASSO dr.ssa Paola
DONATO dr.ssa Anna Maria
GALLI dr.ssa Maria Cristina
GIULIANI dott. Luigi
GUALANO dr.ssa Caterina
LA TORRE dott. Francesco
LEONE dr.ssa Maria Grazia
MANA dott. Massimo
MARRA dr.ssa Anna Rosa
MARTINI dott. Nello
MINGHETTI prof.ssa Paola
MISASI dott. Alfonso
MONTANARI prof.ssa Luisa
OREFICI dr.ssa Graziella
QUAGLIA prof.ssa Maria Giovanna
QUEY dott. Cesare
RIGAMONTI prof. Sandro
SALIS dott. Carlo
SANTUCCI prof.ssa Nora
TADDEI dott. Gian Carlo
VELLA dott. Stefano
VINCIERI prof. Franco Francesco.

Segretariato della Farmacopea Ufficiale:

Direttore: LA TORRE dott. Francesco

CAPPELLI dr.ssa Anna Maria, LANZI sig.ra Anna Maria, FUCILI sig. Luca (contrattista), SIMONELLI dr.ssa Alessia (borsista).
CIGNITTI prof. Maurizio e FARINA dr.ssa Anna (collaboratori esterni).

Hanno collaborato con il Segretariato gli esperti:

Bossù dr.ssa Elena, Gallinella dott. Bruno, Montinaro dr.ssa Anna Lisa, Turchetto dr.ssa Luciana.

Altri esperti ed associazioni che hanno collaborato per la pubblicazione della XII ed. della FU

Esperti:

BELLENTANI dott. Leandro, CORSI dott. Bruno, CORVINO dott. Ermanno, DEGRASSI dott. Damiano, DE MARCHI dott. Giovanni, DI GIORGIO dott. Paolo, FIGINI dr.ssa Marina, FUMAGALLI dott. Marcello, LAVAGGI dr.ssa Maria Grazia, CAPASSO dott.ssa Lucrezia, MOZZETTI dr.ssa Cristina, PALIO dott. Giovanni, PETRICONI dott. Sergio, PETRUCCIANI dott. Tiziano, RENDACE dott. Oreste, RIGAMONTI dr.ssa Maria Adele, SCAFATI dott. Marco, SERINO dott. Enrico, TEDESCHI dott. Stefano, VALLE dott. Vittorio, VALENTE dott. Toni.

Associazioni:

Associazione dei produttori di materie prime per l'industria farmaceutica (ASCHIMFARMA Federchimici); Associazione Farmaceutici dell'Industria (AFI); Associazione Italiana di Medicina Nucleare ed *Imaging Molecolare* (AIMN); Associazione Nazionale Industrie Farmaci Generici (ASSOGENERICI); Chemical Pharmaceutical Generic Association (CPA); Federazione degli Ordini dei Farmacisti Italiani (FOFI); Federazione Nazionale Unitaria dei Titolari di Farmacia Italiani (FEDERFARMA); Società Italiana Farmacisti Preparatori (SIFAP); Società Italiana di Farmacia Ospedaliera (SIFO).

COMMISSIONE EUROPEA DELLA FARMACOPEA

Membri della delegazione italiana

Maurizio CIGNITTI
Anna FARINA
Graziella OREFICI

Membri supplenti

Francesco LA TORRE
Agostino MACRI
Loredana NICOLETTI

**GRUPPI DI LAVORO DELLA COMMISSIONE PERMANENTE
PER LA REVISIONE E LA PUBBLICAZIONE DELLA FARMACOPEA UFFICIALE**

Disinfettanti

Orefici dr.ssa Graziella
Degrassi dott. Damiano
Donato dr.ssa Anna Maria
Salis dott. Carlo
Cappelli dr.ssa Anna Maria

Droghe vegetali

Vincieri prof. F. Francesco
Degrassi dott. Damiano
Donato dr.ssa Anna Maria
Fuzzati dott. Nicola
Leone dr.ssa Maria Grazia
Massarani dott. Gabriele
Farina dr.ssa Anna
Cappelli dr.ssa Anna Maria

Materie prime

La Torre dott. Francesco
Degrassi dott. Damiano
Donato dr.ssa Anna Maria
Figini dr.ssa Marina
Leone dr.ssa Maria Grazia
Salis dott. Carlo
Scuderi dott. Giancarlo
Cignitti prof. Maurizio
Farina dr.ssa Anna
Cappelli dr.ssa Anna Maria

Parenterali

Montanari prof.ssa Luisa
Giuliani dott. Luigi
Salis dott. Carlo
Taddei dott. Gian Carlo
1 rappresentante Federfarma
1 rappresentante AFI
Farina dr.ssa Anna
Cappelli dr.ssa Anna Maria

Preparazioni farmaceutiche

Farina dr.ssa Anna
Cimatti dott. Uberto

Ciranni dr.ssa Elena
Degrassi dott. Damiano
De Marchi dott. Giovanni
Donato dr.ssa Anna Maria
Giuliani dott. Luigi
La Torre dott. Francesco
Leone dr.ssa Maria Grazia
Mana dott. Massimo
Misasi dott. Alfonso
Quaglia prof.ssa Giovanna
Quey dott. Cesare
Salis dott. Carlo
Serino dott. Enrico
Rappresentanti Assogenerici
Cignitti prof. Maurizio
Cappelli dr.ssa Anna Maria

Radiofarmaci

Galli dr.ssa Maria Cristina
Bombardieri dott. Emilio
Bonada dott. Claudio
Duatti prof. Adriano
Giuliani dott. Luigi
Lunghi dott. Fabio
Mango dott. Lucio
Montanari prof.ssa Luisa
Rossetti dott. Claudio
Taddei dott. Gian Carlo
Cignitti prof. Maurizio
Farina dr.ssa Anna
Cappelli dr.ssa Anna Maria

TABELLE

Santucci prof.ssa Eleonora
Degrassi dott. Damiano
Del Basso dr.ssa Paola
Donato dr.ssa Anna Maria
Leone dr.ssa Maria Grazia
Mana dott. Massimo
Minghetti prof.ssa Paola
Cignitti prof. Maurizio
Farina dr.ssa Anna
Cappelli dr.ssa Anna Maria

V. COMMISSIONE EUROPEA DELLA FARMACOPEA

COMPOSIZIONE DELLA COMMISSIONE, DEI SUOI GRUPPI DI ESPERTI E DEL SEGRETARIATO AL 1° GENNAIO 2008

Presidente: Hendrick Jan DE JONG

Vice-presidenti: Marianne EK
Gerard LEE

MEMBRI DELLA COMMISSIONE

Austria	Friedrich LACKNER Andreas MAYRHOFER Christian NOE	Germania	Ulrike HOLZGRABE Dietrich KRUGER D. SCHNADELBACH
Belgio	Jos HOOGMARTENS Paule JACQMAIN	Grecia	Michael A. KOUPPARIS Alexandra TSOKA
Bosnia-Erzegovina	Indira SARKIC	Irlanda	T.A. McGUINN Joan O'RIORDAN Michael MORRIS
Bulgaria	Ljuba KOSTOVA Svetla BOGDANOVA Svetoslav BRANCHEV	Islanda	G. BALDURSDOTTIR I.J. PETERSEN
Cipro	Louis PANAYI	Lettonia	Ilze BARENE
Croazia	Ivana STARESINIC-SERNHORST Laila STEFANINI ORESIC	Lituania	Roma MOCKUTE
Danimarca	Steen Honoré HANSEN Eva SANDBERG Erik WOLTHERS	Italia	Maurizio Cignitti Anna Farina Graziella Orefici
Estonia	Eveli KIKAS Juhan RUUT	Lussemburgo	Jacqueline GENOUX-HAMES Jean-Louis ROBERT
Finlandia	Jussi HOLMALAHTI Kaarina SINIVUO	Malta	Elise BUONTEMPO Tonio CASSAR
Francia	An LE Patrick RAMBOURG Alain NICOLAS	Norvegia	Gunhild BRUGAARD Randi WINSNES
		Paesi Bassi	Dries DE KASTE J.W. DORPEMA Pietre H. VREE

V. Commissione europea della farmacopea

Polonia	Ewa LECIEJEWICZ ZIEMECKA Jan PACHECKA Jaroslaw WALCZAK	Spagna	Franco FERNANDEZ GONZALEZ Jordi RUIZ COMBALIA Carmen DE LA MORENA CRIADO
Portogallo	J.M. CORREIA NEVES SOUSA LOBO Domingos DE CARVALHO FERREIRA	Svezia	Lennart AKERBLOM Marianne EK Pristina GRAFFNER
Regno Unito	Gerard LEE V'lain FENTON-MAY David WOOLFSO	Svizzera	Werner ERNI Lukas BRUCKNER Tobias GOSDSCHAN
Rep. Ceca	Hana LOMSKA Jiri PORTYCH Dana STARKOVA	Ex-Rep. Iugoslava di Macedonia	Aneta DIMITROVSKA Tatjana PERUSEVSKA
Rep. Slovacca	Marta BENKOVA Rumena MARTINCOVA Josef SLANY	Turchia	Kemal Husnu Can BASER Ebru CORA Mahmut TOKAC
Romania	Daniele ENACHE Serbia Danica AGBABA Marija MASKOVIC	Ungheria	Hilda KOSZEGI-SZALAI Jozsef J. LIPTAK
Slovenia	Martina CVELBAR Uros URLEB Simona VUCKO MOLE	Commissione Europea	Rui SANTOS IVO
		EMEA	Emer COOKE

MEMBRI SUPPLEMENTI

Austria	Ivonne GASPAR Johann KURZ Josef TRENKER	Germania	Gerhard FRANZ Christel Charlotte MULLER GOYMANN Rainer SEITZ
Belgio	Charlotte AMELOOT Luc ANGENOT	Grecia	Evangelos PETRODASKALAKIS A. TSANTILI-KAKOULIDOU
Bulgaria	Silvia DIMITONOVA Beyhan EROL	Irlanda	Susann BRADLEY Mirza CATIBUSI
Danimarca	Henning G. KRISTENSEN Heidi SKJOEDT ANDERSEN	Italia	Francesco LA TORRE Agostino MACRI Loredana NICOLETTI
Estonia	Juhan RUUT Eveli KIKAS	Lituania	Jurate PETROSIUTE
Finlandia Francia	Hannele SALOMIES Florence FUCHS Caroline VILAIN	Lussemburgo	Mariette BACKES-LIES

V. Commissione europea della farmacopea

Norvegia	Svein Rune ANDERSEN Valborg HOLTEN	Serbia	Ljiljana ZIVANOVIC Stana MICIC
Paesi Bassi	Peter M.J.M. JONGEN Ellen DE ROOIJ-LAMME Yolanda VAN KOOIJ	Slovenia	Barbara RAZINGER-MIHOVEC Alex ROTAR
Portogallo	Rui MORGADO	Svezia	Torbjorn ARVIDSSON
Polonia	Jan LUDWICKI Malgorzata SZNITOWSKA	Svizzera	Paroline MATHYS BADERTSCHER Andreas TRUTE Uwe VOLKER
Regno Unito	Alastair DAVIDSON Aileen M.T. LEE Matilda VALLENDER	Turchia	Halil AKAR
Rep. Ceca	Hana BIZKOVA Hana JUZOVA	Ungheria	Tamas L. PAAL Tamas NEMETH
Rep. Slovacca	Daniel GRANCAI Ladislav SOVIK		

OSSERVATORI

OMS/WHO	Sabine KOPP	Georgia	
Albania	Shpetim CAUSHI Irena SHUMELI	Israele	Avi ISRAELI Mimi KAPLAN Rami KARIV
Algeria	M.B. MANSOURI	Kazakhstan	Gulnara BERDIMURATOVA Ardak TULEGENOVA
Australia	L. KELLY Margaret SMITH	Madagascar	Jean René RANDRIASAMI- MANANA
Bielorussia		Malesia	MOHD ZIN CHE AWANG
Brasile	Celso BITTENCOURT Victor Hugo COSTA TRAVAS- SOS DA ROSA Gerson Antonio PIANETTI	Marocco	Abdelaziz AGOUMI Yahia CHERRAH
Canada	Sultan GHANI Alan J. MORTIMER	Rep. Araba di Siria	H. ABBOUD
		Senegal	Mamadou BADIANE Pape Amadou DIOP
		Tunisia	Mohamed Hedi OUSLATI
Cina	Chen YIN-QING Pan XUE TIAN	Ucraina	V. GEORGIYEVSKIY M.G. LEVIN Yeranui TOVMASYAN
Federazione di Russia	Valeria BAGIROVA Geliya GILDEEVA	USA	Moheb M. NASR

DIRETTORATO EUROPEO PER LA QUALITA' DEI FARMACI

Direttore:

Susanne KEITEL

Dipartimento della Farmacopea Europea

Peter CASTLE (Capo del Dipartimento)

Divisione A

Michael WIERER

Melanie BALD

Elli BOUAKAZ

Anne-Sopjie BOUIN

Anne GARNIER POIDEVIN

Brigitte JACQUEL

Monica SORINAS JIMENO

Lore VIGNOLI

Division B

Emmanuelle CHARTON

Arnold DAAS

Marie-Laure HECQUET

Charlotta GUSTAFSSON

Catherine LANG

Isabelle MERCIER

Ellen PEL

Laure TACONET

Dipartimento Pubblicazioni e Multimedia

Claude COUNE (Capo del Dipartimento)

Hans-Joachim BIGALKE

Catherine NICOLAS

Redazione Scientifica

Itziar DOMENO BLAIS

Mehrnoosh ENSAN

Christopher JARVIS

Caroline MENDY

Sabine SCHAEFFER

Fauchon EZRATI

Dipartimento del Laboratorio

John H. MILLER (Capo del Dipartimento)

Andrea LODI

Stefan ALMELING

Guy RAUTMANN

Ulrich ROSE

Dipartimento per la standardizzazione biologica e rete OMCLs

Jean-Marc SPIESER (Capo del Dipartimento)

Karl Heinz BUCHHEIT

Richard WANKO

Arnold DAAS

Dipartimento per la Certificazione delle sostanze

Corinne POUGET (Capo del Dipartimento)

Hélène BRUGUERA

Dipartimento per le Sostanze di riferimento

Vincent EGLOFF (Capo del Dipartimento)

Maurice TENDERO

Fanny MOUTIER

Unità Generali

Pierre LEVEAU (Capo dell'Unità per l'Assicurazione di Qualità)

Caroline LARSEN LE TARNEC (Capo dell'Unità per le Pubbliche relazioni)

**ESPERTI ITALIANI IN SENO AI GRUPPI DI ESPERTI
DELLA FARMACOPEA EUROPEA**

Elena BOSSU'	10C	Chimica organica Prodotti di sintesi
Marina CERQUETTI	1	Metodi biologici ed analisi statistica
Bruno CORSI	7	Antibiotici
Rosella FERRETTI	10B	Chimica organica Prodotti di sintesi
Nicola FUZZATI	11	Chimica organica Prodotti naturali
“	13A	Fitochimica A
“	13B	Fitochimica B
Andrea GAZZANIGA	12	Prodotti galenici
Gianluca GOSTOLI	6	Sostanze biologiche
Francesco LA TORRE	10A	Chimica organica Prodotti di sintesi
Giuseppe MASCELLANI	6	Sostanze biologiche
Loredana NICOLETTI	15	Sieri e vaccini
Vittorio NISTRIO	9G	Gas medicinali
Paolo PASQUALI	15V	Vaccini e sieri veterinari
Piero SALVADORI	14	Composti radioattivi
Christina VON HUNOLSTEIN	15	Sieri e vaccini
Maria WIRZ	6B	Sangue umano e prodotti del sangue

**ESPERTI ITALIANI IN SENO AI GRUPPI DI LAVORO
DELLA FARMACOPEA EUROPEA**

Valter ACQUATI	MQH	Qualità Microbiologica delle piante medicinali
Paolo AURELI	BOT	Tossina botulinica
Biancamaria BRUNO	HM	Metodi di fabbricazione omeopatici
“	HOM	Materie prime e materiali omeopatici
Marina CERQUETTI	MMM	Metodi microbiologici moderni
Maurizio CIANFRIGLIA	MAB	Anticorpi monoclonali
Nicola FUZZATI	WXT	Acqua per la preparazione di estratti
Maria Cristina GALLI	GTP	Prodotti di terapia genica
Patrizia GARGANO	INH	Preparazioni per inalazione
Maria Jesus GOMEZ MIGUEL	MAT	Saggio di attivazione dei monociti
Emanuel GUADAGNINO	GLS	Recipienti in vetro
Francesco LA TORRE	CST	Tecniche di separazione cromatografiche
“	SRP	Programma di revisione speciale
Maria Grazia LAVAGGI	CND	Conduttività
Silvano LONARDI	NIR	Spettrometria nel vicino infrarosso
Antonio MAGNI	WAT	Acqua
Alessandro MARTINI	FRC	Caratteristiche legate alla funzionalità
Paola MINGHETTI	PHP	Preparazioni farmaceutiche
Carlo PINI	ALG	Allergeni
Giuseppe RAMASCHI	PST	Pesticidi nelle droghe vegetali
Claudia SIGNORETTI	BET	Saggio delle endotossine batteriche
Giangiuseppe TORRI	NMR	Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare
Franco Francesco VINCIERI	TCM	Medicine tradizionali cinesi

VI. CONTENUTO DELLA XI EDIZIONE DELLA FARMACOPEA UFFICIALE

La XII edizione della FU contiene:

- i testi nazionali,
- alcuni testi europei tradotti in italiano, nuovi o revisionati, ritenuti indispensabili per l'attività preparatoria del farmacista.

I testi europei sono così contraddistinti:

- i capitoli generali sono preceduti da alcuni numeri, come ad esempio 5.2.1.; il primo numero identifica il capitolo mentre gli altri identificano l'ordine di posizione nel capitolo stesso;
- le monografie riportano il loro numero di identificazione posto, in alto, a destra del titolo della monografia.

I testi nazionali, a loro volta, si contraddistinguono nel modo seguente:

- i capitoli generali contengono nel loro numero di identificazione anche il simbolo FU (ad esempio 1. FU.1),
- le singole monografie si distinguono in quanto non riportano alcun numero di identificazione.

Per facilitare il lettore alla consultazione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana riportiamo:

- l'elenco dei testi nazionali revisionati e dei testi soppressi in quanto pubblicati come testi europei.

Per quanto riguarda la parte europea si rimanda ai decreti di recepimento della 6^a edizione della Farmacopea Europea e dei primi tre supplementi, decreti riportati nella parte finale del presente volume.

TESTI NAZIONALI REVISIONATI

Monografie di Preparazioni Farmaceutiche Specifiche

Aloperidolo preparazione iniettabile
Amoxicillina capsule
Ampicillina capsule
Ampicillina sodica preparazione iniettabile
Atropina preparazione iniettabile
Benzilpenicillina benzatinica preparazione iniettabile
Calcio gluconato preparazione iniettabile
Cefalotina sodica preparazione iniettabile
Cloramfenicolo sodio succinato preparazione iniettabile
Cloxacillina sodica preparazione iniettabile
Desametasone compresse
Digossina preparazione iniettabile
Efedrina preparazione iniettabile
Eritromicina lattobionato preparazione iniettabile
Gentamicina preparazione iniettabile
Idroxicobalamina preparazione iniettabile
Pentamidina preparazione iniettabile
Sodio nitroprussiato preparazione iniettabile
Streptomicina solfato preparazione iniettabile
Tetraciclina preparazione iniettabile
Tiopentale sodico polvere sterile per preparazioni iniettabili

TABELLE

Tabella 2

Tabella 3

Tabella 4

Tabella 5

Tabella 7

Tabella 8

TESTI NAZIONALI NON RIPORTATI IN QUANTO PUBBLICATI COME TESTI EUROPEI

Monografie di materie prime

XI EDIZIONE	VI EDIZIONE DELLA FARMACOPEA EUROPEA
Adrenalina	Adrenalina
Cascara estratto acquoso secco	Cascara estratto secco titolato
Cascara estratto secco	
China estratto fluido	China estratto liquido titolato
Mirtillo nero estratto idroalcolico secco titolato	Mirtillo frutto fresco estratto secco, purificato e titolato
Pino silvestre essenza	Pino silvestre essenza
Valeriana estratto idroalcolico secco	Valeriana estratto secco idroalcolico

CAPITOLI GENERALI

1. Prescrizioni generali

1.1.	Prescrizioni generali della Farmacopea Europea	5	1.FU.	Prescrizioni generali della Farmacopea Ufficiale	16
1.1.1.	Generalità	5	1.FU.1.	Monografie di preparazioni farmaceutiche specifiche	16
1.1.2.	Altre disposizioni relative ai capitoli generali e monografie	6	1.FU.2.	Gas medicinali	17
1.1.3.	Capitoli generali	7	1.FU.3.	Droghe vegetali	17
1.1.4.	Monografie	8	1.FU.4.	Abbreviazioni	17
1.1.5.	Abbreviazioni e simboli	11	1.FU.5.	Sinonimi ed espressioni	17
1.1.6.	Unità del Sistema Internazionale (S.I.) utilizzate nella Farmacopea e corrispondenza con altre unità	12			

1. PRESCRIZIONI GENERALI

Le Prescrizioni Generali della Farmacopea Europea si applicano a tutte le monografie e gli altri testi che costituiscono la Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana (). Le monografie e i testi nazionali debbono soddisfare anche alle Prescrizioni generali della Farmacopea Ufficiale.*

1.1. PRESCRIZIONI GENERALI DELLA FARMACOPEA EUROPEA

1.1.1. GENERALITÀ

Le Prescrizioni Generali si applicano a tutte le monografie ed altri testi della Farmacopea Europea.

I testi ufficiali della Farmacopea Europea sono pubblicati in inglese e francese. Gli Stati firmatari della Convenzione per una Farmacopea Europea possono tradurli in altre lingue. In caso di dubbio o disputa si deve fare riferimento alle sole versioni inglese e francese.

Nei testi della Farmacopea Europea, la parola “Farmacopea” senza ulteriore qualificazione significa Farmacopea Europea. L’abbreviazione ufficiale Ph. Eur. può essere usata per indicare la Farmacopea Europea.

Quando per designare un prodotto si fa uso del titolo o del sottotitolo di una monografia, il prodotto così designato soddisfa alle specifiche della corrispondente monografia. I riferimenti alle monografie, nei testi della Farmacopea, vengono fatti indicando il titolo della monografia ed il numero di serie in *corsivo*.

Una preparazione farmaceutica deve essere conforme per l’intero periodo di validità; qualora aperta o in corso di utilizzazione l’autorità competente può decidere un periodo di validità e/o delle specifiche diversi. Gli altri prodotti costituenti l’oggetto di una monografia devono soddisfare a tale monografia per tutta la durata della loro utilizzazione. Il periodo di validità attribuito ad una determinata preparazione ed il tempo a decorrere dal quale tale periodo deve essere calcolato, vengono definiti dalla Autorità competente in base ai risultati sperimentali relativi agli studi di stabilità.

* La Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana è, oggi, costituita dai testi di cui alla presente XII edizione nonché dai testi della 6ª edizione della Farmacopea Europea, e successivi supplementi, receipti, direttamente in lingua inglese e francese, con appropriati decreti ministeriali.

Salvo indicazione contraria nelle Prescrizioni Generali o nelle monografie, le specifiche delle monografie costituiscono requisiti obbligatori. I capitoli generali diventano obbligatori quando citati in una monografia, a meno che il riferimento viene fatto in modo che risulti manifesta l’intenzione di citare i testi a solo titolo di informazione.

Gli ingredienti attivi (le sostanze medicinali), gli eccipienti (le sostanze ausiliarie), le preparazioni farmaceutiche e gli altri prodotti descritti in una monografia sono destinati ad un uso umano o veterinario (se non esplicitamente ristretto ad uno solo di questi usi). Un prodotto è di qualità “Farmacopea” quando è conforme a tutte le specifiche descritte nella monografia. Ciò non implica che per un fabbricante sia obbligatorio effettuare l’insieme dei saggi di una monografia per valutare la conformità alla Farmacopea prima del rilascio di un prodotto. Il fabbricante può accertarsi che un prodotto è di qualità “Farmacopea” da dati ottenuti, per esempio, da studi di convalida del processo di produzione e dei controlli in corso di produzione. La necessità di soddisfare alle esigenze della Farmacopea non esclude la possibilità di ricorrere ad un rilascio parametrico in circostanze ritenute appropriate dalle Autorità competenti.

I saggi e dosaggi descritti sono i metodi ufficiali a partire dai quali sono basate le norme della Farmacopea. Con l’accordo della Autorità competente possono essere usati, ai fini del controllo, metodi analitici alternativi a condizione che tali metodi permettano, senza equivoci, di decidere che le norme delle monografie sarebbero state soddisfatte qualora fossero stati usati i metodi ufficiali. In caso di dubbio o di disputa, i metodi di analisi della Farmacopea sono i soli riconosciuti validi.

Certe sostanze che sono oggetto di una monografia possono esistere in diverse qualità appropriate per usi differenti. Se non diversamente indicato nella monografia, le specifiche si applicano a tutte le qualità della sostanza. In alcune monografie, particolarmente quelle sugli eccipienti, può essere messa in appendice, per informazione, una lista di proprietà connesse con la

funzionalità che sono importanti per l'uso della sostanza stessa. Alcuni metodi per la determinazione di una o più di queste proprietà possono essere presenti, egualmente a titolo di informazione.

Sistema di qualità. Gli standards di qualità rappresentati dalle monografie sono validi solo quando gli articoli in questione sono prodotti nell'ambito di un appropriato sistema di qualità.

Monografie generali. Le sostanze e le preparazioni che sono oggetto di una singola monografia debbono essere conformi con le specifiche delle pertinenti ed applicabili monografie generali.

I riferimenti a queste ultime monografie generali non vengono di norma riportati sulle singole monografie.

Le monografie generali si applicano a tutte le sostanze e preparazioni nell'ambito dello scopo riportato nella sezione Definizione della monografia generale stessa eccetto quando un preambolo ne limita l'applicazione come ad esempio alle sostanze e preparazioni che sono l'oggetto di una monografia della Farmacopea.

Le monografie generali delle forme farmaceutiche si applicano a tutte le preparazioni del tipo in esse definito. Le specifiche non sono necessariamente esaustive per una data monografia; esigenze supplementari a quelle prescritte nella monografia generale possono essere imposte dalle Autorità competenti.

Le monografie generali e le monografie specifiche sono complementari. Se le disposizioni di una monografia generale non si applicano ad un dato prodotto, la monografia specifica lo indica espressamente.

Convalida dei metodi di Farmacopea. I metodi per i saggi dati nelle monografie e nei capitoli generali sono stati convalidati secondo la pratica scientifica in uso e le raccomandazioni correnti sulla convalida analitica. Salvo indicazioni contrarie riportate nella monografia o nel capitolo generale, la convalida dei metodi per i saggi da parte dell'analista non è richiesta.

Termini convenzionali. Il termine "Autorità competente" indica un organismo nazionale, sopranazionale o internazionale investito del potere decisionale per l'argomento in questione. Può essere, ad esempio, una autorità della farmacopea nazionale, o una autorità di registrazione o del laboratorio di controllo.

L'espressione "se non diversamente giustificato ed autorizzato" significa che le specifiche debbono essere rispettate a meno che l'Autorità competente, dopo giustificazione, autorizzi in un caso particolare una modifica o una esenzione.

Espressioni presentate al condizionale ("dovrebbero") costituiscono informazioni o consigli.

In certe monografie o altri testi, i termini "adeguato" o "appropriato" sono usati per qualificare un reattivo, microrganismo, un metodo, ecc.; se i criteri di adeguatezza non sono descritti nella monografia, l'adeguatezza stessa deve essere riconosciuta dall'autorità competente.

Metodi intercambiabili. Alcuni capitoli generali contengono l'affermazione che il testo in questione è armonizzato con il corrispondente testo della Farmacopea Giapponese e/o della Farmacopea degli Stati Uniti e che questi testi sono intercambiabili. Questo implica che se una sostanza o una preparazione risulta conforme ad una specifica utilizzando un metodo intercambiabile di una di queste farmacopee essa è conforme anche con i requisiti della Farmacopea Europea.

I riferimenti a queste ultime monografie generali non vengono, di norma, riportati nelle singole monografie.

Riferimento a documenti regolatori. Le monografie ed i capitoli generali possono contenere dei riferimenti a documenti emanati dalle autorità regolatorie dei medicinali, per esempio direttive e linee guida dell'Unione Europea. Questi riferimenti vengono forniti a titolo di informazione per gli utilizzatori della Farmacopea. L'inclusione di tali riferimenti non modifica lo stato del documento citato; quest'ultimo può essere obbligatorio o esplicativo.

1.1.2. ALTRE DISPOSIZIONI RELATIVE AI CAPITOLI GENERALI E MONOGRAFIE

Quantità. Nei saggi con limiti numerici e nei dosaggi, le quantità indicate, per l'esecuzione analitica, sono approssimate. La quantità realmente usata, che può differire per non più del 10 per cento da quella indicata, deve essere esattamente pesata o misurata; il risultato è calcolato in base a questa quantità esatta. Nei saggi dove il limite non è numerico, ma dipende usualmente dal confronto con il comportamento di una sostanza di riferimento nelle stesse condizioni, viene utilizzata la quantità indicata. I reattivi vengono utilizzati nelle quantità prescritte.

Le quantità sono pesate o misurate con una accuratezza corrispondente al grado di precisione indicato. Nel caso delle pesate, la precisione corrisponde a più o meno 5 unità dopo l'ultima cifra indicata (ad esempio 0,25 g deve essere interpretata come una quantità compresa tra 0,245 g e 0,255 g). Per la misura dei volumi, se la cifra dopo la virgola è zero o finisce con uno zero (per esempio 10,0 ml o 0,50 ml), si utilizza a seconda del caso una pipetta, un pallone tarato o una buretta; negli altri casi

può essere impiegato un cilindro o una pipetta graduata. I volumi indicati in microlitri vengono misurati mediante una micropipetta o microsiringa.

È tuttavia ammesso che, in certi casi, la precisione con la quale le quantità vengono indicate non corrisponda al numero di cifre significative indicato in uno specifico limite numerico. Le pesate e le misure vengono in questo caso effettuate con un sufficiente grado di accuratezza.

Apparecchi e procedure. La vetreria volumetrica soddisfa ai requisiti di Classe A delle appropriate Norme Internazionali stabilite dalla Organizzazione Internazionale di Normalizzazione.

Se non diversamente prescritto, le procedure analitiche vengono effettuate ad una temperatura compresa tra 15 °C e 25 °C.

Se non diversamente prescritto, i saggi comparativi vengono effettuati in tubi identici di vetro incolore, trasparente, neutro aventi un fondo piatto; i volumi di liquido prescritti debbono essere usati per tubi con un diametro interno di 16 mm; tubi con un diametro interno più grande possono essere usati a condizione che il volume di liquido usato venga adeguato (2.1.5). Volumi uguali dei liquidi da comparare vengono esaminati secondo l'asse verticale dei tubi contro un fondo bianco o, se necessario, contro un fondo nero. L'esame viene effettuato con luce diffusa. Tutti i solventi impiegati in un saggio o dosaggio che prevede l'uso di un indicatore vengono preventivamente neutralizzati in presenza di quell'indicatore, a meno che non sia prescritto un saggio in bianco.

Bagno maria. Il termine “bagno-maria” significa un bagno di acqua bollente a meno che non venga indicata acqua ad un'altra temperatura. Possono essere usati altri metodi di riscaldamento a condizione che la temperatura sia vicina, ma non superiore ai 100 °C o alla temperatura prescritta.

Seccare e calcinare a massa costante. I termini “seccare a massa costante” e “calcinare a massa costante” significano che due pesate consecutive non differiscono per più di 0,5 mg; la seconda pesata viene effettuata dopo un ulteriore periodo di essiccamento o calcinazione appropriato alla natura e quantità del residuo.

Dove è prescritto l'essiccamento utilizzando una delle espressioni “in essiccatore” o “nel vuoto”, esso viene effettuato usando le condizioni descritte in 2.2.32. *Perdita all'essiccamento.*

Reattivi. La realizzazione corretta delle procedure analitiche descritte nella Farmacopea e la attendibilità dei risultati dipende, in parte, dalla qualità dei reattivi usati.

I reattivi sono descritti nel capitolo generale 4. *Si assume che i reattivi utilizzati siano di qualità analitica; per alcuni reattivi, i saggi per determinare la loro adeguatezza sono inclusi nelle specifiche.*

Solventi. Il termine “soluzione”, senza indicazione del solvente, indica una soluzione acquosa. Quando l'uso dell'acqua è prescritto o implicito per le procedure analitiche descritte nella Farmacopea o per la preparazione dei reattivi, l'acqua usata deve essere conforme alle specifiche della monografia *Acqua depurata (0008)*, ma per la maggior parte delle utilizzazioni non sono necessarie, le specifiche per le endotossine batteriche (*Acqua depurata in grande volume*) e per la contaminazione microbica (*Acqua depurata ripartita in contenitori*). Il termine “acqua distillata” indica acqua depurata preparata mediante distillazione.

Il termine “etanolo” senza altra qualificazione significa etanolo anidro. Il termine “alcool” senza qualificazione significa etanolo (96 per cento *V/V*). Altre diluizioni di etanolo sono indicate con il termine “alcool” seguito dall'indicazione della percentuale, in volume di etanolo (C_2H_6O), richiesta.

Espressione del contenuto. Nel definire il contenuto, l'espressione “per cento” viene usata, a seconda delle circostanze, con uno dei seguenti due significati:

- per cento *m/m* (percentuale, massa su massa) esprime il numero di grammi di sostanza in 100 grammi di prodotto finale;
- per cento *V/V* (percentuale, volume su volume) esprime il numero di millilitri di sostanza in 100 millilitri di prodotto finale.

L'espressione “parti per milione (ppm)” si riferisce a massa su massa, se non diversamente specificato.

Temperatura. Quando una procedura analitica indica una temperatura senza specificarla numericamente, le espressioni generali utilizzate hanno i seguenti significati:

In congelatore:	sotto	- 15 °C
In frigorifero:	tra	2 °C e 8 °C
In luogo fresco:	tra	8 °C e 15 °C
a temperatura ambiente	tra	15 °C e 25 °C

1.1.3. CAPITOLI GENERALI

Contenitori (recipienti). I materiali utilizzati nella fabbricazione dei contenitori (recipienti) sono descritti nel capitolo generale 3.1.

Le denominazioni generali utilizzate per i materiali ed in particolare per le materie plastiche, comprendono ciascuna una gamma di prodotti che differiscono non solo

per le proprietà del costituente principale ma anche per gli additivi usati. I metodi di analisi ed i limiti da applicare ai materiali dipendono dalla formulazione e sono perciò applicabili solo a quei materiali le cui formulazioni corrispondono a quelle indicate nel preambolo delle specifiche. L'uso di materiali aventi differenti formulazioni, i metodi di analisi ed i limiti ad essi applicati sono soggetti all'accettazione della Autorità competente. Le specifiche per i contenitori così come descritte nel capitolo generale 3.2. sono state elaborate in vista di una loro applicazione generale ai contenitori delle categorie indicate; tuttavia per la grande varietà di contenitori disponibili e di possibili nuovi sviluppi, la pubblicazione di una specifica non esclude l'uso, in circostanze giustificate, di contenitori che soddisfano ad altre specifiche, previo accordo con le Autorità competenti.

Nelle monografie della Farmacopea può essere fatto riferimento alle definizioni e specifiche per i contenitori comprese in questa sezione. Le monografie generali per le forme farmaceutiche possono richiedere, nella sezione Definizione/Produzione l'uso di certi tipi di contenitori; altre monografie possono indicare, nella sezione conservazione, il tipo di contenitore che è raccomandato per l'uso.

1.1.4. MONOGRAFIE

TITOLI

I titoli delle monografie sono redatti in francese e in inglese, nelle rispettive versioni; c'è anche un sottotitolo in latino.

MASSE ATOMICHE E MOLECOLARI RELATIVE

La massa atomica relativa (A_r) o la massa molecolare relativa (M_r) è indicata, se e dove appropriato, all'inizio di ciascuna monografia. Le masse atomiche e molecolari relative così come le formule brute e di struttura non costituiscono norme analitiche per le sostanze descritte.

CHEMICAL ABSTRACT SERVICE (CAS) REGISTRY NUMBER

Nei casi appropriati, i numeri CAS vengono inclusi nelle monografie per informazione onde facilitare gli

utilizzatori ad accedere ad ulteriori utili ragguagli. Il CAS Registry Number è un marchio depositato della American Chemical Society.

DEFINIZIONE

Il contenuto della sezione "Definizione" costituisce una definizione ufficiale della sostanza, preparazione o altro formulato oggetto della monografia.

Limiti del contenuto. I limiti del contenuto indicati sono quelli determinati mediante il metodo descritto nel "Dosaggio".

Droghe vegetali. Nelle monografie delle droghe vegetali, la definizione indica se l'oggetto della monografia è, ad esempio, l'intera droga o la droga in forma di polvere. Nel caso in cui una monografia si applica alla droga in forme diverse, per esempio alla droga come tale o alla droga in forma di polvere, la definizione lo precisa chiaramente.

PRODUZIONE

Le disposizioni presenti nella sezione "Produzione" richiamano l'attenzione su aspetti particolari del processo di fabbricazione ma non sono necessariamente esaustive. Esse costituiscono, salvo indicazione contraria, norme obbligatorie per i fabbricanti. Possono riferirsi, ad esempio alle materie prime, allo stesso processo di fabbricazione, alla sua convalida e controllo, a saggi in corso di fabbricazione o a saggi che debbono essere effettuati dal fabbricante sul prodotto finito o su specifici lotti o su ogni lotto prima del rilascio del prodotto. Queste disposizioni possono non essere sempre verificabili su un campione del prodotto finito da un analista indipendente esterno. L'Autorità competente può assicurarsi che le istruzioni sono state seguite, per esempio, esaminando i dati ricevuti dal produttore, mediante una ispezione all'officina di produzione o con saggi su appropriati campioni.

L'assenza di una sezione "Produzione" non significa che non sia richiesto di fare attenzione ai punti sopra riferiti.

Scelta del ceppo di vaccino, Scelta della composizione di un vaccino. La sezione Produzione di una monografia può definire le caratteristiche di un ceppo di vaccino o della composizione di un vaccino. Salvo indicazioni contrarie, i metodi dati per la verifica di queste caratteristiche sono descritte, per informazione, come esempi di metodi appro-

priati. Su approvazione della autorità competente, altri metodi possono essere usati senza convalide nei confronti del metodo presentato nella monografia.

CARATTERI

Le disposizioni presenti nella sezione “Caratteri” non debbono essere interpretate in senso stretto né costituiscono delle specifiche.

Solubilità. Le indicazioni sulla solubilità nella sezione “Caratteri” sono espresse in termini aventi il seguente significato con riferimento ad una temperatura compresa tra 15 °C e 25 °C.

Indicazione	Volume approssimativo di solvente in millilitri per grammo di sostanza
Solubilissimo	meno di 1
Molto solubile	da 1 a 10
Solubile	da 10 a 30
Moderatamente solubile	da 30 a 100
Poco solubile	da 100 a 1000
Molto poco solubile	da 1000 a 10000
Praticamente insolubile	più di 10000

Il termine “parzialmente solubile” è usato nel caso di miscele di cui solo alcuni dei componenti si disciolgono. Il termine “miscibile” è usato per descrivere un liquido che è miscibile in tutte le proporzioni con il solvente indicato.

IDENTIFICAZIONE

Scopo. I saggi riportati nella sezione “Identificazione” non sono designati per dare una conferma assoluta della struttura chimica o composizione del prodotto; essi sono rivolti a dare la conferma, con un accettabile livello di sicurezza, che il prodotto è conforme alla descrizione riportata sull’etichetta.

Prima e seconda identificazione. Alcune monografie hanno una suddivisione in “Prima identificazione” e “Seconda identificazione”. Il saggio o i saggi che costituiscono la “Prima identificazione” possono essere utilizzati per la identificazione in qualunque circostanza. Il saggio o saggi che costituiscono la “Seconda identificazione” possono essere usati per l’identificazione a condizione che possa essere dimostrato che la sostanza o la preparazione appartenga, senza dubbio, ad un lotto con certificato di conformità a tutte le altre specifiche della monografia.

Polveri di droghe vegetali. Le monografie sulle droghe vegetali possono contenere dei disegni schematici della droga polverizzata. Questi disegni completano la descrizione della polvere data nel relativo saggio di identificazione.

SAGGI E DOSAGGI

Scopo. Le norme non sono definite per tener conto di tutte le possibili impurezze. Non si deve presumere, ad esempio, che una impurezza non rivelabile con i saggi prescritti viene tollerata se il senso comune e la buona pratica farmaceutica esigono che essa sia assente. Vedi anche di seguito nel paragrafo Impurezze.

Calcolo. Quando il risultato di un saggio o di un dosaggio deve essere calcolato rispetto alla sostanza secca o anidra o su un altro specifico riferimento, la determinazione della perdita all’essiccamento, del contenuto in acqua o altra specifica proprietà, viene effettuata mediante il metodo prescritto nell’appropriato saggio della monografia. Le parole “sostanza secca” o “sostanza anidra” ecc. appaiono tra parentesi dopo il risultato.

Limiti. I limiti prescritti sono basati su dati ottenuti con la normale pratica analitica; essi tengono conto dei normali errori analitici, delle variazioni accettabili connesse con la fabbricazione e la preparazione così come di un certo grado di degradazione ritenuto accettabile.

Non debbono essere applicate ulteriori tolleranze ai limiti prescritti per determinare se il formulato esaminato soddisfa alle specifiche della monografia.

Nel determinare la conformità con un limite numerico, il valore calcolato di un risultato di un saggio o di un dosaggio viene arrotondato al numero di cifre significative indicate, salvo indicazioni contrarie. L’ultima cifra viene aumentata di una unità quando la parte eliminata è eguale o eccede una mezza unità; quando la parte numerica eliminata è inferiore ad una mezza unità, il numero non si modifica.

Indicazione del contenuto ammesso di impurezze. Per saggi comparativi, il contenuto approssimativo di un’impurezza tollerata, o della somma delle impurezze, può essere indicato a solo titolo informativo. Se non è prescritto l’impiego di una sostanza di riferimento dell’impurezza menzionata, il contenuto di questa impurezza può essere espresso come concentrazione nominale della sostanza usata per preparare la soluzione di riferimento specificata nella monografia, salvo indica-

zione contraria. L'accettazione o il rigetto del prodotto in esame viene fatto sulla base della conformità o della non conformità al saggio prescritto.

Droghe vegetali. Per le droghe vegetali, le ceneri solforiche, le ceneri totali, le materie estraibili con acqua o con alcool, il contenuto di oli essenziali ed il contenuto di principio attivo si calcolano con riferimento alla droga così come si presenta, cioè non essiccata, salvo indicazione contraria nella monografia.

Equivalenti. Quando in una determinazione è indicato un equivalente, ai fini della Farmacopea solo le cifre che lo compongono vanno utilizzate nell'applicazione delle prescrizioni della monografia.

Terreni di coltura. I terreni di coltura descritti nelle monografie e nei capitoli generali sono stati trovati adeguati per l'utilizzazione prevista. Tuttavia i componenti dei mezzi, particolarmente quelli di origine biologica, sono di qualità variabile e per ottenere un comportamento ottimale, può essere necessario modulare la concentrazione di alcuni ingredienti, in particolare:

- i peptoni e gli estratti di carne o lievito, in funzione delle loro proprietà nutritive,
- le sostanze aventi un effetto tampone,
- i sali biliari, l'estratto di bile, i deossicolati, le sostanze coloranti, in funzione delle loro proprietà reattive,
- gli antibiotici, in funzione della loro attività.

CONSERVAZIONE

Le informazioni e le raccomandazioni fornite nella sezione "Conservazione" non costituiscono specifiche di farmacopea; le Autorità competenti possono definire e imporre condizioni particolari di conservazione.

I prodotti descritti nella Farmacopea devono essere conservati in condizioni che permettano di evitare qualsiasi contaminazione e, nei limiti del possibile, qualsiasi alterazione. Quando sono raccomandate condizioni speciali di conservazione, compreso il tipo di contenitore (*1.1.3 Capitoli generali*) e i limiti di temperatura, si trovano indicazioni specifiche nella monografia. Le seguenti espressioni vengono usate nelle monografie sotto la sezione "Conservazione" con il seguente significato.

In un contenitore ermeticamente chiuso significa che un prodotto deve essere conservato in un recipiente a chiusura ermetica (3.2). Quando il recipiente viene aperto in atmosfera di forte umidità si dovranno pren-

dere le necessarie misure precauzionali. Se necessario si può ridurre il grado di umidità nel recipiente mediante un essiccante appropriato, a condizione che quest'ultimo non venga in contatto diretto con la sostanza da conservare.

Protetto dalla luce. Significa che il prodotto deve essere conservato in un recipiente di materiale che assorba la luce attinica in misura sufficiente per proteggere il contenuto da ogni alterazione provocata da questa; si può anche usare un recipiente chiuso messo in un involucro che assicuri una tale protezione o collocato in un luogo privo di luce attinica.

ETICHETTE

In generale l'etichettatura è soggetta a normative soprannazionali e nazionali e ad accordi internazionali. Le indicazioni riportate nella sezione "Etichette" non sono pertanto esaustive e del resto, ai fini della Farmacopea sono vincolanti solo quelle indicazioni necessarie a dimostrare la conformità o non conformità con la monografia stessa. Ogni altra informazione è riportata come raccomandazione. Quando nella Farmacopea si usa il termine "etichetta" questo significa che le indicazioni di etichettatura possono essere apposte sul contenitore, sull'imballaggio, sul foglietto illustrativo che accompagna l'imballaggio o in un certificato che accompagna il prodotto in conformità a quanto deciso dalla Autorità competente.

AVVERTENZE

Certe sostanze descritte nelle monografie e certi reattivi il cui uso è prescritto per i saggi e le determinazioni della Farmacopea possono essere pericolosi per la salute se non vengono manipolati prendendo misure precauzionali adeguate. E' indispensabile osservare in ogni momento i principi di buona pratica di laboratorio, di controllo della qualità e le prescrizioni in vigore. Certaine monografie possono contenere un'avvertenza in corsivo che attira l'attenzione del lettore su particolari pericoli. L'assenza di una tale avvertenza non significa tuttavia che non sussista pericolo.

IMPUREZZE

A titolo di informazione può essere data una lista di tutte le impurezze, note e potenziali, che sono rivelabili, come dimostrato, dai vari saggi di una monografia.

Vedi anche 5.10 *Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico*.

Le impurezze sono designate mediante una o più lettere dell'alfabeto. Quando una lettera sembra mancare nella lista, l'impurezza designata da questa lettera è stata cancellata dalla lista durante l'elaborazione della monografia prima della sua pubblicazione.

CARATTERISTICHE CORRELATE ALLA FUNZIONALITA'

Le monografie sugli eccipienti possono avere una sezione sulle caratteristiche correlate alla funzionalità. Queste caratteristiche, i metodi eventualmente indicati per il loro controllo e le tolleranze eventualmente indicate non costituiscono norme obbligatorie; esse possono tuttavia essere di interesse per l'uso dell'eccipiente e vengono date a titolo di informazione.

STANDARDS DI RIFERIMENTO

Certe monografie richiedono l'uso di standards di riferimento (sostanze chimiche di riferimento, preparazioni biologiche di riferimento, spettri di riferimento). La Commissione Europea di Farmacopea definisce gli standards di riferimento ufficiali che si applicano solo in casi di disputa.

Questi standard di riferimento sono disponibili presso il Direttorato Europeo per la Qualità dei Medicinali (EDQM). Informazioni sugli standard di riferimento disponibili ed una dichiarazione sulla validità di un lotto si possono trovare sul sito web dell'EDQM (www.edqm.eu) (vedi anche 5.12 Standards di riferimento).

1.1.5. ABBREVIAZIONI E SIMBOLI

A	Assorbanza.
$A_1^{1 \text{ per cento}}$	Assorbanza specifica.
A_r	Massa atomica relativa.
$[\alpha]_D^{20}$	Potere rotatorio specifico.
d_{20}^{20}	Densità relativa.
λ	Lunghezza d'onda.
M	Molarità.
M_r	Massa molecolare relativa.
n_D^{20}	Indice di rifrazione.

p.e.	Punto di ebollizione.
p.f.	Punto di fusione.
PBR	Preparazione Biologica di Riferimento.
ppm	Parti per milione.
R	Sostanza o soluzione definite nei "Reattivi".
R_f	Usata in cromatografia per indicare il rapporto tra la distanza percorsa da una sostanza e la distanza percorsa dal fronte del solvente.
R_{st}	Usata in cromatografia per indicare il rapporto tra la distanza percorsa da una sostanza e la distanza percorsa da una sostanza di riferimento.
RV	Sostanza usata come standard primario in analisi volumetrica.
SCR	Sostanza Chimica di Riferimento.
U.I.	Unità Internazionale.
U. Ph. Eur.	Unità Farmacopea Europea.

Abbreviazioni usate nelle monografie sulle immunoglobuline, immunosieri e vaccini

DL_{50}	La quantità, statisticamente determinata, di una sostanza che, quando somministrata per la via indicata, provoca la morte del 50 per cento degli animali trattati entro un dato tempo.
DLM	Dose letale minima.
Dose L+/10	La più piccola quantità di una tossina che, nelle condizioni del saggio, quando mescolata con 0,1 U.I. di antitossina e somministrata per la via specificata, causa la morte degli animali trattati entro un dato tempo.
Dose L+	La più piccola quantità di una tossina che, nelle condizioni del saggio, quando mescolata con 1 U.I. di antitossina e somministrata per la via specificata, causa la morte degli animali trattati entro un dato tempo.
Dose 1r/100	La più piccola quantità di tossine che, nelle condizioni del saggio, quando mescolata con 0,01 U.I. di antitossina ed iniettata per via intradermica causa, entro un dato tempo, una reazione caratteristica al punto di inoculazione.

Prescrizioni generali della Farmacopea Europea

Dose Lp/10	La più piccola quantità di tossina che, nelle condizioni del saggio, quando mescolata con 0,1 U.I. di antitossina e somministrata per la via specificata, provoca la paralisi degli animali trattati entro un dato tempo.	NCIMB	Institut Pasteur, 25 Rue du Docteur Roux 75724 Paris Cedex 15, France National Collection of Industrial and Marine Bacteria Ltd 23 St. Machar Drive Aberdeen AB2 1RY, Great Britain
Dose Lo/10	La più grande quantità di tossina che, nelle condizioni del saggio, quando mescolata con 0,1 U.I. di antitossina e somministrata per la via specificata, non determina sintomi di tossicità negli animali trattati entro un dato tempo.	NCPF	National Collection of Pathogenic Fungi London School of Hygiene and Tropical Medicine Keppel Street, London WC1E 7HT, Great Britain
Dose Lf	La quantità di tossina o anatossina che, mescolata con 1 U.I. di antitossina, floccula nel periodo di tempo più breve.	NCTC	National Collection of Type Cultures Central Public Health Laboratory Colindale Avenue London NW9 5HT, Great Britain
DICC ₅₀	La quantità, statisticamente determinata, di un virus che infetta il 50 per cento delle colture cellulari inoculate.	NCYC	National Collection of Yeast Cultures AFRC Food Research Institute Colney Lane Norwic NR4 7UA, Great Britain
DIU ₅₀	La quantità, statisticamente determinata, di un virus che infetta il 50 per cento delle uova embrionate inoculate.	S.S.I.	Statens Serum Institut 80 Amager Boulevard København, Danmark
DI ₅₀	La quantità, statisticamente determinata, di un virus che infetta il 50 per cento degli animali inoculati.		
DP ₅₀	La dose, statisticamente determinata, di un vaccino che, nelle condizioni del saggio, protegge il 50 per cento degli animali dalla dose di prova dei microrganismi o delle tossine contro cui il vaccino è attivo.		
ED ₅₀	La dose, statisticamente determinata, di un vaccino che, nelle condizioni del saggio, induce anticorpi specifici nel 50 per cento.		
PFU	Unità formanti pustola o unità formanti placca.		
SPF	Esente da organismi patogeni specifici.		

Collezioni di microrganismi

ATCC	American Type Culture Collection 10801 University Boulevard Manassas, Virginia 20110-2209, USA
C.I.P.	Collection de Bactéries de l'Institut Pasteur B.P. 52, 25 Rue du Docteur Roux 75724 Paris Cedex 15, France
IMI	International Mycological Institute Bakcham Lane Surrey TW20 9TY, Great Britain
I.P.	Collection Nationale de Culture de Microorganismes (C.N.C.M.)

1.1.6. UNITÀ DEL SISTEMA INTERNAZIONALE (SI) UTILIZZATE NELLA FARMACOPEA E CORRISPONDENZA CON ALTRE UNITÀ.

SISTEMA INTERNAZIONALE DI UNITÀ (SI)

Il Sistema Internazionale di Unità comprende tre classi di unità, ovvero le unità di base, le unità derivate e le unità supplementari⁽¹⁾. Le unità di base e le loro definizioni sono riportate nella Tabella 1.6.-1.

Le unità derivate possono essere formate mediante combinazione delle unità di base secondo relazioni algebriche che correlano le grandezze corrispondenti. Alcune di queste unità derivate hanno nomi e simboli speciali. Le unità SI utilizzate nella Farmacopea sono mostrate in Tabella 1.6.-2.

Alcune unità importanti e largamente usate al di fuori del Sistema Internazionale sono riportate nella Tabella 1.6.-3.

I prefissi riportati in Tabella 1.6.-4. sono usati per formare i nomi ed i simboli dei multipli e sottomultipli decimali delle unità SI.

(1) Le definizioni delle unità usate nel Sistema Internazionale sono riportate nel libretto "Le Système International d'Unités (SI)" pubblicato dal Bureau International des Poids et Mesures, Pavillon de Breteuil, F-92310 Sevres.

Tabella 1.6.-1. - Unità SI di base

Grandezza		Unità		Definizione
Nome	Simbolo	Nome	Simbolo	
Lunghezza	<i>l</i>	metro	m	Il metro è la lunghezza del cammino percorso, nel vuoto, dalla luce, nell'intervallo di tempo di 1/299792458 di secondo.
Massa	<i>m</i>	chilogrammo	kg	Il chilogrammo è eguale alla massa del prototipo internazionale del chilogrammo.
Tempo	<i>t</i>	secondo	s	Il secondo è la durata di 9 192 631 770 periodi della radiazione corrispondente alla transizione tra i due livelli iperfini dello stato fondamentale dell'atomo di cesio-133.
Corrente elettrica	<i>I</i>	ampère	A	L'ampère è l'intensità di una corrente costante che, mantenuta in due conduttori paralleli e rettilinei, di lunghezza infinita, di sezione circolare trascurabile e distanziati di 1 metro nel vuoto, determina, tra questi conduttori, una forza uguale a 2×10^{-7} newton su ogni metro di lunghezza.
Temperatura termodinamica	<i>T</i>	kelvin	K	Il kelvin è la frazione 1/273,16 della temperatura termodinamica del punto triplo dell'acqua.
Quantità di sostanza	<i>n</i>	mole	mol	La mole è la quantità di sostanza di un sistema contenente tante entità elementari quanti sono gli atomi contenuti in 0,012 chilogrammi di carbonio-12(*).
Intensità luminosa	<i>I_v</i>	candela	cd	La candela è l'intensità luminosa, in una data direzione, di una sorgente che emette una radiazione monocromatica della frequenza di 540×10^{12} hertz e la cui intensità energetica in questa direzione è di 1/683 watt per steradiante.

(*) Quando si usa la mole, le entità elementari devono essere specificate e possono essere atomi, molecole, elettroni, ioni, altre particelle oppure raggruppamenti specificati di tali particelle.

Prescrizioni generali della Farmacopea Europea

Tabella 1.6.-2. - Unità SI usate nella Farmacopea e corrispondenza con altre unità

Grandezza		Unità				Conversione di altre unità in unità SI
Nome	Simbolo	Nome	Simbolo	Espressione in unità SI di base	Espressione in altre unità SI	
Numero d'onda	ν	uno al metro	1/m	m^{-1}		
Lunghezza d'onda	λ	micrometro nanometro	μm nm	$10^{-6}m$ $10^{-9}m$		
Superficie	A, S	metro quadrato	m^2	m^2		
Volume	V	metro cubo	m^3	m^3		1 ml = 1 cm ³ = 10 ⁻⁶ m ³
Frequenza	ν	hertz	Hz	s ⁻¹		
Densità	ρ	chilogrammo al metro cubo	kg/m ³	kg·m ⁻³		1 g/ml = 1 g/cm ³ = 10 ³ kg·m ⁻³
Velocità	v	metro al secondo	m/s	m·s ⁻¹		
Forza	F	newton	N	m·kg·s ⁻²		1 dyne = 1 g·cm·s ⁻² = 10 ⁻⁵ N 1 kp = 9,806 65 N
Pressione	p	pascal	Pa	m ⁻¹ ·kg·s ⁻²	N·m ⁻²	1 dyne/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 Torr = 133,322 368 Pa 1 psi = 6,894 757 kPa
Viscosità dinamica	η	pascal secondo	Pa·s	m ⁻¹ ·kg·s ⁻¹	N·s·m ⁻²	1 P = 10 ⁻¹ Pa·s = 10 ⁻¹ N·s·m ⁻²
Viscosità cinematica	ν	metro quadrato al secondo	m ² /s	m ² ·s ⁻¹	Pa·s·m ³ ·kg ⁻¹ N·m·s·kg ⁻¹	1 cP = 1 mPa·s 1 St = 1 cm ² ·s ⁻¹ = 10 ⁻⁴ m ² ·s ⁻¹
Energia	W	joule	J	m ² ·kg·s ⁻²	N·m	1 erg = 1 cm ² ·g·s ⁻² = 1 dyne·cm = 10 ⁻⁷ J 1 cal = 4,1868 J
Potenza, flusso energetico	P	watt	W	m ² ·kg·s ⁻³	N·m·s ⁻¹ J·s ⁻¹	1 erg/s = 1 dyne·cm·s ⁻¹ = 10 ⁻⁷ W = 10 ⁻⁷ N·m·s ⁻¹ = 10 ⁻⁷ J·s ⁻¹
Dose assorbita (di energia radiante)	D	gray	Gy	m ² ·s ⁻²	J·kg ⁻¹	1 rad = 10 ⁻² Gy
Potenziale elettrico, forza elettromotrice	U	volt	V	m ² ·kg·s ⁻³ ·A ⁻¹	W·A ⁻¹	
Resistenza elettrica	R	ohm	Ω	m ² ·kg·s ⁻³ ·A ⁻²	V·A ⁻¹	
Quantità di elettricità	Q	coulomb	C	A·s		
Attività di un radionuclide	A	becquerel	Bq	s ⁻¹		1 Ci = 37 × 10 ⁹ Bq = 37 × 10 ⁹ s ⁻¹
Concentrazione di quantità di sostanza, concentrazione molare	c	mole al metro cubo	mol/m ³	mol·m ⁻³		1 mol/l = 1M = 1 mol/dm ³ = 10 ³ mol·m ⁻³
Concentrazione in massa	ρ	chilogrammo al metro cubo	kg/m ³	kg·m ⁻³		1 g/l = 1 g/dm ³ = 1 kg·m ⁻³

Tabella 1.6.-3.
Unità usate con il Sistema Internazionale

Grandezza	Unità		Valore in unità SI
	Nome	Simbolo	
Tempo	minuto ora giorno	min h d	1 min = 60 s 1 h = 60 min = 3600 s 1 d = 24 h = 86 400 s
Angolo piano	grado	°	1° = (π/180) rad
Volume	litro	l	1 l = 1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³
Massa	tonnellata	t	1 t = 10 ³ kg
Frequenza di rotazione	giri al minuto	r/min	1 r/min = (1/60) s ⁻¹

Tabella 1.6.-4.
Multipli e sottomultipli decimali delle unità

Fattore	Prefisso	Simbolo	Fattore	Prefisso	Simbolo
10 ¹⁸	esa	E	10 ⁻¹	deci	d
10 ¹⁵	peta	P	10 ⁻²	centi	c
10 ¹²	tera	T	10 ⁻³	milli	m
10 ⁹	giga	G	10 ⁻⁶	micro	μ
10 ⁶	mega	M	10 ⁻⁹	nano	n
10 ³	chilo	k	10 ⁻¹²	pico	p
10 ²	etto	h	10 ⁻¹⁵	femto	f
10 ¹	deca	da	10 ⁻¹⁸	atto	a

Note

1. La Farmacopea utilizza la temperatura Celsius (simbolo *t*), definita dall'equazione.

$$t = T - T_o$$

dove $T_o = 273,15$ K per definizione. La temperatura Celsius o centigrada è espressa in gradi Celsius (simbolo °C). L'unità "grado Celsius" è uguale all'unità "kelvin".

2. Le espressioni pratiche delle concentrazioni usate nella Farmacopea sono definite nelle Prescrizioni generali.
3. Il radiante è l'angolo piano compreso fra due raggi di un cerchio che intercettano nella circonferenza un arco di lunghezza uguale al raggio.
4. Nella Farmacopea le condizioni di centrifugazione sono definite con riferimento alla accelerazione dovuta alla gravità (*g*):

$$g = 9,80665 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$$

5. Nella Farmacopea vengono usate certe grandezze senza dimensioni: la densità relativa (2.2.5), l'assorbanza (2.2.25), l'assorbanza specifica (2.2.25), l'indice di rifrazione (2.2.6).
6. L'unità microkatal è definita come l'attività enzimatica che, in condizioni definite, provoca la trasformazione (per esempio l'idrolisi) di 1 micromole di substrato al secondo.

1.FU. PRESCRIZIONI GENERALI DELLA FARMACOPEA UFFICIALE

1.FU.1. MONOGRAFIE DI PREPARAZIONI FARMACEUTICHE SPECIFICHE

Titolo. Il titolo della monografia di una preparazione farmaceutica specifica è in genere una combinazione della denominazione comune italiana (o equivalente) del principio attivo (o di uno o più dei principi attivi) presente nella forma farmaceutica con il più appropriato termine standard, a volte anche nella “forma abbreviata”, della preparazione farmaceutica specifica in questione. Così ad esempio il titolo della monografia relativa ad una soluzione per uso cutaneo contenente iodio è: Iodio soluzione cutanea.

Nel caso in cui sono presenti monografie di due o più preparazioni farmaceutiche che contengono differenti sali della stessa sostanza, quest’ultima viene indicata nel titolo mantenendo anche il nome dell’agente salificante. Così ad esempio per le compresse che contengono Chinina solfato il titolo della relativa monografia è “Chinina solfato compresse” mentre per le compresse che contengono Chinina cloridrato il titolo è “Chinina cloridrato compresse”. Viceversa nei titoli delle monografie relative a preparazioni farmaceutiche che contengono tutte l’idrocortisone acetato è presente solo il nome “idrocortisone” in quanto non c’è ambiguità tra una monografia e l’altra.

I termini standard sono stati a volte sostituiti con termini delle pertinenti monografie generali. Così ad esempio nel caso di monografie di categorie diverse della stessa preparazione (ad es. crema e unguento) lo specifico termine standard è stato sostituito con la terminologia usata nella monografia generale della forma farmaceutica; in questo modo la monografia avente per titolo “Betametasone preparazione semisolida per applicazione cutanea” sostituisce le vecchie monografie Betametasone crema e Betametasone unguento.

Riferimenti a monografie generali. Le monografie delle preparazioni farmaceutiche specifiche contengono di norma un preambolo in corsivo che riporta il riferimento ad una monografia generale. Come sottolineato anche nella introduzione della Farmacopea Europea tale riferimento non è esaustivo; infatti è responsabilità degli utilizzatori della farmacopea accertare l’applicabilità delle diverse monografie generali alla monografia di una singola preparazione farmaceutica.

Definizione. Quanto riportato in questa sezione costituisce una definizione ufficiale della preparazione che è oggetto della monografia.

I nomi delle singole sostanze che compongono la forma farmaceutica sono riportati in corsivo; ciò significa che

la sostanza indicata deve rispondere alle specifiche di qualità riportate nella rispettiva monografia. E’ pertanto implicito che la corrispondenza a tali specifiche deve essere accertata sulla sostanza tal quale prima del suo impiego per la preparazione della forma farmaceutica finita. Inoltre qualunque componente anche se non menzionato esplicitamente, deve comunque soddisfare a quanto previsto dalla monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*.

In alcune monografie la definizione è data in termini qualitativi menzionando il (i) solo(i) principio(i) attivo(i) e omettendo ogni riferimento quantitativo; comunque i dosaggi autorizzati sono riportati in corsivo alla fine di ogni monografia.

In altre monografie la definizione è presentata con una composizione quali-quantitativa precisa che deve essere rigorosamente rispettata; fa eccezione l’eventuale presenza di additivi prevista nelle pertinenti monografie generali.

L’indicazione “preparata di recente” sta a significare che la preparazione in questione deve essere effettuata non più di 24 ore prima dell’uso.

La frase “può contenere un antimicrobico” implica che la preparazione in questione deve essere protetta in maniera efficace e rispondente a quanto descritto in “*Efficacia della conservazione antimicrobica (5.1.3)*”.

Saggi. I saggi previsti nelle monografie generali non sono di norma riportati nella monografia specifica. In casi particolari viene comunque indicata non solo l’esecuzione, ma anche il metodo per l’esecuzione del saggio stesso.

Convalida dei metodi analitici. Le procedure per i saggi e per la determinazione quantitativa sono state convalidate al tempo della loro elaborazione.

Condizioni di conservazione. Le condizioni di conservazione relative alla temperatura non sono riportate nelle singole monografie. E’ infatti responsabilità del fabbricante ottemperare a quanto previsto dalle normative vigenti.

Periodo di validità (Scadenza). Il periodo di validità delle singole preparazioni non è riportato nelle relative monografie. E’ responsabilità del fabbricante definirlo in conformità alle normative in vigore.

Etichette. Le etichette dei prodotti medicinali che fanno riferimento a monografie di preparazioni farmaceutiche specifiche debbono soddisfare a quanto previsto dalla normativa comunitaria vigente.

1.FU.2. GAS MEDICINALI

Titolo delle monografie. Il titolo delle monografie dei gas medicinali costituiti da “ossidi” evidenzia per primo il nome dell’elemento diverso dall’ossigeno (i.e. carbonio diossido, azoto protossido). Questo stesso criterio è stato usato anche per i nomi di tutti gli ossidi che sono presenti nei titoli di altri testi di farmacopea; i termini tradizionali (ossido di azoto, ossido di carbonio, ecc.) trovano comunque spazio, discorsivamente, nell’ambito di singoli testi.

Definizione. Si definiscono gas medicinali i gas la cui monografia è presente nella farmacopea come il carbonio diossido (anidride carbonica), l’aria medicinale, l’azoto, l’ossigeno, l’azoto protossido.

Sono assimilate ai gas medicinali le miscele ottenute tra i gas sopraindicati, le cui caratteristiche ovviamente corrispondono alle caratteristiche indicate nelle specifiche monografie.

Conservazione. I gas medicinali possono essere conservati sia allo stato liquido che allo stato di gas compresso; nel caso di conservazione in bombole allo stato di gas compresso o liquefatto, occorre rispettare la specifica normativa in vigore.

1.FU.3. DROGHE VEGETALI

Oltre a quanto previsto nella monografia generale “*Droghe vegetali*” e nel capitolo 2.8 *Metodi di farmacognosia* le droghe vegetali devono:

- contenere, quando non sia fissato un limite, non più del 10 per cento di umidità (perdita all’essiccamento);
- se importate, rispondere a quanto stabilito dalle relative vigenti norme comunitarie.

1.FU.4. ABBREVIAZIONI

b.m.	Bagno maria.
I.R.	Infrarosso.
p.i.	Preparazione iniettabile.
U.V.	Ultravioletto.
Var	Varietà.
EOPS	Esenti da organismi patogeni specificati.
UFC	Unità formante colonia.
UFP	Unità formante pustola o unità formante placca.

1.FU.5. SINONIMI ED ESPRESSIONI

Nelle monografie e in altri testi della Farmacopea si usa molto sovente, in luogo del termine “Contenitore”, il sinonimo “Recipiente”; ciò vale in particolare per la sezione “Conservazione” delle forme farmaceutiche finite nella quale si impiega anche l’espressione “in confezione ben chiusa”.

2. Metodi di analisi

2.1.	Apparecchiature	23	2.6.	Saggi biologici	191
2.2.	Metodi fisici e fisico-chimici	27	2.7.	Dosaggi biologici	261
2.3.	Identificazione	123	2.8.	Metodi generali di farmacognosia ..	321
2.4.	Saggi limite	133	2.9.	Saggi e procedimenti tecnologici ...	337
2.5.	Saggi	167			

2.1. Apparecchiature

2.1.	Apparecchiature	23	2.1.4.	Setacci	24
2.1.1.	Contagocce	23	2.1.5.	Tubi per saggi comparativi	24
2.1.2.	Tabella comparativa della porosità dei filtri a setto poroso.	23	2.1.6.	Tubi per la determinazione di gas . .	25
2.1.3.	Lampade a luce ultravioletta per scopi analitici.	23			

2.1. APPARECCHIATURE

2.1.1. *CONTAGOCCE

Il termine «gocce» si riferisce a gocce normali rilasciate da un contagocce normale come di seguito descritto. I contagocce normali (Figura 2.1.1.-1) sono costruiti con vetro praticamente incolore. L'estremità inferiore ha un orifizio circolare a bordo piano, ad angolo retto rispetto all'asse.

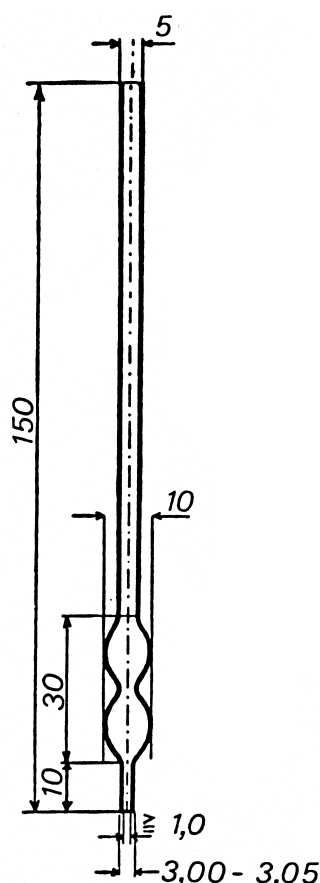


Figura 2.1.1.-1. - *Contagocce normale*
Dimensioni in millimetri

Possono essere usati altri contagocce, purché soddisfino al seguente saggio. Venti gocce di *acqua R* a 20 ± 1 °C che fluiscono liberamente dal contagocce, tenuto in posizione verticale, ad una velocità costante di una goccia al secondo, pesano 1000 ± 50 mg. Il contagocce deve essere accuratamente pulito prima dell'uso. Eseguire tre determinazioni per ciascun contagocce. Nessun risultato può deviare più del 5 per cento dalla media delle tre determinazioni.

2.1.2. TABELLA COMPARATIVA DELLA POROSITÀ DEI FILTRI A SETTO POROSO ⁽¹⁾

Tabella 2.1.2.-1.

Numero di porosità (Ph. Eur.) ⁽²⁾	Diametro massimo (in micrometri) dei fori	Germania	Francia	Regno Unito
1,6	inferiore a 1,6	5f	—	—
—	1 - 2,5	5	—	5
4	1,6 - 4	—	—	—
—	4 - 6	—	5	—
10	4 - 10	4f	—	4
16	10 - 16	4	4	—
40	16 - 40	3	3	3
—	40 - 50	—	—	2
100	40 - 100	2	2	—
—	100 - 120	—	—	1
160	100 - 160	1	1	—
—	150 - 200	0	0	—
250	160 - 250	—	—	—
—	200 - 500	—	00	—

Diametri in micrometri

Usi speciali

- < 2,5 Filtrazione batteriologica
- 4 - 10 Filtrazione ultra-fine, separazione di microrganismi di grosso diametro
- 10 - 40 Filtrazione analitica, filtrazione molto fine del mercurio, dispersione molto fine dei gas
- 40 - 100 Filtrazione fine, filtrazione del mercurio, dispersione fine dei gas
- 100 - 160 Filtrazione di materiale grossolano, dispersione e lavaggio dei gas, supporto per altri materiali filtranti
- 160 - 500 Filtrazione di materiali molto grossolani, dispersione e lavaggio dei gas.

(1) I limiti indicati sono solo approssimativi.

(2) La Farmacopea Europea ha adottato il sistema proposto dalla Organizzazione Internazionale per la Standardizzazione (ISO).

2.1.3. LAMPADINE A LUCE ULTRAVIOLETTA PER SCOPI ANALITICI

Come sorgente di luce ultravioletta viene utilizzato il vapore di mercurio in lampada di quarzo. La parte visibile dello spettro emesso dalla lampada può essere eliminato con l'uso di un filtro adeguato. Quando la Farmacopea, in un saggio, prescrive l'uso di luce ultravioletta alla lunghezza d'onda di 254 nm o di 365 nm, utilizzare uno strumento costituito da una lampada a vapori di mercurio e da un filtro che dà una banda di emissione con intensità massima a circa 254 nm o 365 nm. La lampada usata deve essere in grado di evidenziare con certezza, su un supporto di *gel di silice G R* posto in posizione normale alla radiazione, una macchia di riferimento di sodio salicilato avente un diametro di circa 5 mm.

Tubi per saggi comparativi

Per fare ciò applicare 5 µl di una soluzione (0,4 g/l) di *sodio salicilato R* in *alcohol R*⁽¹⁾, per lampade che hanno la massima intensità a 254 nm, e 5 µl di una soluzione (2 g/l) in *alcohol R*⁽¹⁾ per lampade che hanno la massima intensità a 365 nm. La distanza tra la lampada e la lastra cromatografica deve essere la stessa sia nel saggio qui descritto che in quello prescritto in un saggio di farmacopea.

(1) *L'alcohol R* usato non deve essere fluorescente.

2.1.4. SETACCI

I setacci sono costruiti con materiale adatto ed hanno maglie quadrate. Per scopi diversi dalle procedure analitiche, possono essere usati setacci con maglie circolari; i diametri interni di queste sono 1,25 volte l'apertura della maglia quadrata del setaccio corrispondente. Non deve avvenire alcuna reazione tra il materiale del setaccio e la sostanza da setacciare. Il grado di finezza è prescritto nella monografia utilizzando il numero del setaccio che indica l'apertura della maglia in micrometri, riportato in parentesi dopo il nome della sostanza. Massima tolleranza⁽²⁾ per una apertura (+X): la dimensione di ciascuna apertura non deve superare la dimensione nominale più di X, dove:

$$X = \frac{2(w^{0,75})}{3} + 4(w^{0,25})$$

w = larghezza dell'apertura

Tolleranza per l'apertura media (±Y): la dimensione dell'apertura media non deve discostarsi dalla dimensione nominale più di ±Y, dove:

$$Y = \frac{w^{0,98}}{27} + 1,6$$

Tolleranza intermedia (+Z): non più del 6 per cento del numero totale delle aperture deve avere dimensioni comprese tra «nominale + X» e «nominale + Z», dove:

$$Z = \frac{X + Y}{2}$$

Diametro del filo *d*: i diametri dei fili riportati in Tabella 2.1.4.-1 si riferiscono ai fili di una rete metallica montata su un telaio. Le dimensioni nominali dei diametri dei fili possono differire da questi valori entro i limiti *d*_{max} e *d*_{min}. I limiti definiscono un intervallo ammesso del ±15 per cento delle dimensioni nominali raccomandate. In un setaccio di riferimento i fili debbono avere lo stesso diametro nelle direzioni di trama ed ordito.

(2) Vedi International Standard ISO 3310/1 (1975).

2.1.5. TUBI PER SAGGI COMPARATIVI

I tubi utilizzati per i saggi comparativi sono tubi calibrati, in vetro incolore con un diametro interno uniforme. Il fondo è trasparente e piatto. Esaminare la colonna di liquido secondo l'asse verticale del tubo, su fondo bianco o, se necessario, su fondo nero. Effettuare l'esame in luce diffusa. Si assume che saranno usati tubi con un diametro interno di 16 mm. Possono essere usati tubi con diametro interno più grande, ma il volume del liquido esaminato deve essere poi aumentato in modo che l'altezza del liquido nei tubi non sia inferiore a quella che si ottiene quando vengono usati il volume prescritto di liquido e tubi di 16 mm di diametro interno.

Tabella 2.1.4.-1. - Valori in micrometri

Numero dei setacci (Dimensione nominale delle aperture)	Tolleranza per le aperture			Diametri dei fili		
	Massima tolleranza per una apertura	Tolleranza per la media dell'apertura	Tolleranza intermedia	Dimensioni nominali raccomandate	Limiti ammissibili	
	+ X	±Y	+Z	<i>d</i>	<i>d</i> _{max}	<i>d</i> _{min}
11200	770	350	560	2500	2900	2100
8000	600	250	430	2000	2300	1700
5600	470	180	320	1600	1900	1300
4000	370	130	250	1400	1700	1200
2800	290	90	190	1120	1300	950
2000	230	70	150	900	1040	770
1400	180	50	110	710	820	600
1000	140	30	90	560	640	480
710	112	25	69	450	520	380
500	89	18	54	315	360	270
355	72	13	43	224	260	190
250	58	9,9	34	160	190	130
180	47	7,6	27	125	150	106
125	38	5,8	22	90	104	77
90	32	4,6	18	63	72	54
63	26	3,7	15	45	52	38
45	22	3,1	13	32	37	27
38	—	—	—	30	35	24

2.1.6. TUBI PER LA DETERMINAZIONE DI GAS

I tubi per la determinazione di gas sono tubi cilindrici, sigillati, costituiti da materiale trasparente inerte e costruiti per permettere il passaggio di gas. Essi contengono reattivi adsorbiti su substrati inerti che sono adatti per la visualizzazione della sostanza da determinare e, se necessario, anche strati e/o filtri adsorbenti preliminari per eliminare sostanze che interferiscono con il gas da determinare. Lo strato di indicatore contiene un solo reattivo per la determinazione di una data impurezza oppure più reattivi per la determinazione di più sostanze (tubo monostrato o tubo multistrato).

Il saggio viene effettuato facendo passare il volume richiesto del gas in esame attraverso il tubo indicatore. La lunghezza dello strato colorato o l'intensità di una variazione di colore su una scala graduata dà una indicazione della impurezza presente nel gas.

La verifica della calibrazione dei tubi per la determinazione dei gas viene effettuata seguendo le istruzioni del fabbricante.

Condizioni operative. Operare secondo le istruzioni del fabbricante o procedere come segue:

Il recipiente contenente il gas da analizzare è collegato con un adatto regolatore di pressione ed una valvola a spillo. Collegare la valvola con un tubo flessibile munito di una estremità ad Y e regolare il flusso di gas in esame per spurgare il sistema con un appropriato flusso (vedi Figura 2.1.6.-1). Preparare il tubo indicatore e collegarlo alla pompa seguendo le istruzioni del fabbricante. Collegare l'estremità aperta del tubo indicatore al tubo corto ed azionare la pompa per un appropriato numero di volte in modo da far passare un adeguato volume di gas in esame attraverso il tubo stesso. Leggere il valore corrispondente alla lunghezza dello strato colorato o all'intensità di colore sulla scala graduata. Se si ottiene un risultato negativo, i tubi indicatori debbono essere controllati con un gas di calibrazione contenente l'appropriata impurezza.

Considerata l'ampia varietà disponibile di oli per il compressore, è necessario verificare la reattività dei tubi rivelatori di olio per l'olio usato nel compressore stesso. Le informazioni sulla reattività per i diversi oli

sono riportate nelle istruzioni fornite con il tubo rivelatore. Se l'olio usato non è citato nelle istruzioni, il fabbricante del tubo deve verificare la reattività e se necessario fornire un tubo specifico per questo olio.

Tubo per la determinazione del diossido di carbonio. È un tubo di vetro sigillato contenente filtri adsorbenti e adeguati supporti per gli indicatori idrazina e cristal violetto. Il valore minimo indicato è 100 ppm, con una deviazione standard relativa del ± 15 per cento al massimo.

Tubo per la determinazione del diossido di zolfo. È un tubo di vetro sigillato contenente filtri adsorbenti e adeguati supporti per l'indicatore amido iodurato. Il valore minimo indicato è 0,5 ppm, con una deviazione standard relativa del ± 15 per cento al massimo.

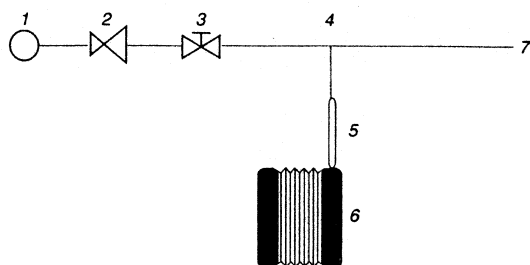
Tubo per la determinazione dell'olio. È un tubo di vetro sigillato contenente filtri adsorbenti ed un adeguato supporto per l'indicatore acido solforico. Il valore minimo indicato è 0,1 mg/m³, con una deviazione standard relativa del ± 30 per cento al massimo.

Tubo per la determinazione del monossido di azoto e del diossido di azoto. È un tubo di vetro sigillato contenente filtri adsorbenti e adeguati supporti per uno strato di un ossidante (sale di Cr(VI)) e per l'indicatore difenilbenzidina. Il valore minimo indicato è 0,5 ppm, con una deviazione standard relativa del ± 15 per cento al massimo.

Tubo per la determinazione del monossido di carbonio. È un tubo di vetro sigillato contenente filtri adsorbenti e adeguati supporti per gli indicatori pentossido di iodio (I₂O₅), diossido di selenio e acido solforico fumante. Il valore minimo indicato è 5 ppm o meno, con una deviazione standard relativa del ± 15 per cento al massimo.

Tubo per la determinazione del solfuro di idrogeno. È un tubo di vetro sigillato contenente filtri adsorbenti e adeguati supporti per un indicatore costituito da un sale di piombo appropriato. Il valore minimo indicato è 1 ppm o meno, con una deviazione standard relativa del ± 10 per cento al massimo.

Tubo per la determinazione del vapore d'acqua. È un tubo sigillato contenente filtri adsorbenti e adeguati supporti per l'indicatore magnesio perclorato. Il valore minimo indicato è 67 ppm o meno, con una deviazione standard relativa del ± 20 per cento al massimo.



1. recipiente contenente il gas da analizzare
2. regolatore della pressione
3. valvola a spillo
4. tubo con estremità ad Y
5. tubo per la determinazione dei gas
6. pompa per il tubo per la determinazione dei gas
7. estremità aperta all'aria

Figura 2.1.6.-1.- Apparato per tubi per la determinazione dei gas.

2.2. Metodi fisici e fisico-chimici

2.2.	Metodi fisici e fisico-chimici	29	2.2.29.	Cromatografia liquida	62
2.2.1.	Limpidezza e grado di opalescenza dei liquidi	29	2.2.30.	Cromatografia per esclusione	64
2.2.2.	Grado di colorazione dei liquidi	32	2.2.31.	Elettroforesi	66
2.2.3.	Determinazione potenziometrica del pH	34	2.2.32.	Perdita all'essiccamento	74
2.2.4.	Correlazione tra reazione della soluzione, pH approssimato e colorazione di alcuni indicatori	36	2.2.33.	Spettrometria di risonanza magne- tica nucleare	74
2.2.5.	Densità relativa	36	2.2.34.	Analisi termica	75
2.2.6.	Indice di rifrazione	37	2.2.35.	Osmolalità	78
2.2.7.	Potere rotatorio	38	2.2.36.	Determinazione potenziometrica della concentrazione ionica utiliz- zando elettrodi ione-selettivi	79
2.2.8.	Viscosità	39	2.2.37.	Spettrometria di fluorescenza a rag- gi-X	80
2.2.9.	Metodo del viscosimetro a capillare	39	2.2.38.	Conduttività	81
2.2.10.	Viscosità - Metodo del viscosimetro a corpo rotante	40	2.2.39.	Distribuzione della massa moleco- lare nei destrani	82
2.2.11.	Intervallo di distillazione	42	2.2.40.	Spettrofotometria nel vicino infra- rosso	85
2.2.12.	Punto di ebollizione	43	2.2.41.	Dicroismo circolare	86
2.2.13.	Determinazione dell'acqua per distillazione	43	2.2.42.	Densità dei solidi	88
2.2.14.	Punto di fusione - Metodo al capil- lare	44	2.2.43.	Spettrometria di massa	89
2.2.15.	Punto di fusione - Metodo al capil- lare aperto	44	2.2.44.	Carbonio organico totale nell'acqua per uso farmaceutico	93
2.2.16.	Punto di fusione - Metodo della fusione istantanea	44	2.2.45.	Cromatografia a fluido supercritico	94
2.2.17.	Punto di gocciolamento	45	2.2.46.	Tecniche di separazione cromato- grafica	95
2.2.18.	Punto di solidificazione	46	2.2.47.	Elettroforesi capillare	101
2.2.19.	Titolazione amperometrica	47	2.2.48.	Spettrometria Raman	108
2.2.20.	Titolazione potenziometrica	47	2.2.49.	Metodo del viscosimetro a sfera cadente	111
2.2.21.	Fluorimetria	48	2.2.54.	Focalizzazione isoelettrica	111
2.2.22.	Spettrometria di emissione atomica	48	2.2.57.	Spettrometria di emissione atomica a plasma accoppiato induttiva- mente	114
2.2.23.	Spettrometria di assorbimento ato- mico	50	2.2.58.	Spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente	117
2.2.24.	Spettrofotometria di assorbimento nell' infrarosso	53	2.2.60.	Punto di fusione. Metodo strumen- tale	119
2.2.25.	Spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto e nel visibile	56	2.2.FU.1.	Microscopia elettronica analitica	121
2.2.26.	Cromatografia su carta	58			
2.2.27.	Cromatografia su strato sottile	58			
2.2.28.	Gas cromatografia	60			

2.2. METODI FISICI E FISICO-CHIMICI

Tabella 2.2.1.-1.

2.2.1. LIMPIDEZZA E GRADO DI OPALESCENZA DEI LIQUIDI

Sospensione di riferimento	I	II	III	IV
Standard di opalescenza	5,0 ml	10,0 ml	30,0 ml	50,0 ml
<i>Acqua R</i>	95,0 ml	90,0 ml	70,0 ml	50,0 ml

METODO VISIVO

In tubi da saggio identici, di vetro neutro, incolori, trasparenti, a fondo piatto ed aventi un diametro interno compreso tra 15 mm e 25 mm, confrontare il liquido in esame con la sospensione di riferimento preparata al momento dell'uso; i tubi da saggio vanno riempiti per un'altezza di 40 mm. Confrontare i liquidi dopo 5 min dalla preparazione della sospensione di riferimento, osservando verticalmente lungo l'asse del tubo contro fondo nero alla luce diffusa del giorno. La diffusione della luce deve essere tale da permettere di differenziare facilmente la sospensione di riferimento I dall'*acqua R* e la sospensione di riferimento II dalla sospensione di riferimento I.

Un liquido è considerato *limpido* se la sua limpidezza è la stessa di quella dell'*acqua R* o del solvente utilizzato se esaminato nelle condizioni descritte precedentemente, o se la sua opalescenza non è più intensa di quella della sospensione di riferimento I.

Idrazina solfato soluzione. Disciogliere 1,0 g di *idrazina solfato R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Lasciare a riposo per 4-6 h.

Esametilentetrammina soluzione. Disciogliere 2,5 g di *esametilentetrammina R* in 25,0 ml di *acqua R* in una beuta da 100 ml con tappo a smeriglio.

Sospensione primaria di opalescenza (sospensione di formazina). Aggiungere 25,0 ml di idrazina solfato soluzione nella beuta contenente la soluzione di esametilentetrammina. Mescolare e lasciare a riposo per 24 h. Questa sospensione è stabile per 2 mesi avendo cura che sia conservata in un recipiente di vetro a pareti perfettamente lisce; la sospensione non deve aderire al vetro e deve essere mescolata con cura prima dell'uso.

Standard di opalescenza. Diluire 15,0 ml di sospensione primaria di opalescenza a 1000,0 ml con *acqua R*. Questa sospensione è preparata al momento dell'uso e può essere conservata al massimo per 24 h.

Sospensioni di riferimento. Preparare le sospensioni di riferimento secondo le indicazioni della Tabella 2.2.1.-1. Mescolare ed agitare prima dell'uso.

Standard di torbidità. La sospensione di formazina preparata mescolando volumi uguali di idrazina solfato soluzione e di esametilentetrammina soluzione è definita come standard di riferimento primario da 4000 UTN (Unità di Torbidità Nefelometrica). Le sospensioni di riferimento I, II, III e IV hanno valori di 3, 6, 18 e 30 UTN rispettivamente. In commercio sono disponibili sospensioni stabilizzate di formazina che possono essere impiegate per preparare standard di torbidità diluiti e stabili e possono essere utilizzate dopo confronto con gli standard preparati secondo la procedura descritta.

La formazina presenta diverse caratteristiche preferenziali che la rendono un eccellente standard di torbidità. Può essere preparata in maniera riproducibile da materie prime dosate. Le sue caratteristiche fisiche la rendono uno standard di taratura adeguato per misure di diffusione della luce. Il polimero della formazina è costituito da catene di differenti lunghezze, che si piegano in configurazioni casuali. Ne consegue una grande diversità di forme e dimensioni di particelle che permettono l'analisi dei diversi tipi di particelle che possono essere presenti nei campioni reali. A causa della riproducibilità della preparazione della formazina, delle sue caratteristiche di diffusione e della sua tracciabilità, gli algoritmi di calibrazione degli strumenti ed i criteri di prestazione sono basati soprattutto su questo standard.

METODI STRUMENTALI

Introduzione

Il grado di opalescenza può anche essere determinato mediante misurazioni strumentali della luce assorbita o diffusa a causa di disomogeneità della densità ottica a livello submicroscopico delle soluzioni e sospensioni opalescenti. Due tecniche di questo tipo sono la nefelometria e la turbidimetria. Per le misure di torbidità di campioni colorati, si usano la «turbidimetria relativa» e la «nefelometria con selezione di rapporto».

L'effetto di diffusione della luce delle particelle sospese può essere misurato mediante l'osservazione della luce trasmessa (turbidimetria) o della luce diffusa (nefelometria). La turbidimetria relativa combina i principi della nefelometria e della turbidimetria. La turbidimetria e la nefelometria sono utili per la misurazione di sospensioni lievemente opalescenti. È necessario l'impiego di sospensioni di riferimento preparate in condizioni ben definite. Per le misurazioni quantitative è indispensabile la costruzione di curve di calibrazione, dal momento che la relazione tra le proprietà ottiche della sospensione e la concentrazione della fase dispersa è, nella migliore delle ipotesi, semiempirica.

La determinazione dell'opalescenza di liquidi colorati è effettuata mediante turbidimetria relativa o nefelometria con selezione di rapporto dal momento che il colore dà luogo ad un'interferenza negativa, attenuando sia la luce incidente che quella diffusa e rendendo pertanto il valore della torbidità più basso di quanto dovrebbe essere. L'effetto è tale, persino per campioni moderatamente colorati, che i nefelometri convenzionali non possono essere adoperati.

La valutazione strumentale della limpidezza e dell'opalescenza costituisce un metodo di misura più discriminante rispetto all'esame visivo che è indipendente dalla acutezza visiva dell'analista. L'ottenimento di risultati numerici è utile soprattutto per il monitoraggio della qualità ed il controllo di processo, specialmente negli studi sulla stabilità. Per esempio, dati numerici precedentemente acquisiti relativi alla stabilità possono essere utilizzati per determinare se un dato lotto di una formulazione farmaceutica o di un principio attivo rischia di trovarsi fuori specifica prima della scadenza.

Nefelometria

Quando una sospensione viene esaminata perpendicolarmente alla direzione della luce incidente, il sistema appare opalescente a causa della riflessione della luce sulle particelle della sospensione (effetto Tyndall). Una certa parte del raggio di luce che attraversa un liquido torbido viene trasmessa, un'altra parte viene assorbita e la rimanente parte viene diffusa dalle particelle sospese. Se la misurazione viene effettuata a 90° rispetto al raggio di luce, la luce diffusa dalle particelle sospese può essere utilizzata per la determinazione della loro concentrazione, a condizione che il numero e le dimensioni delle particelle che influenzano la diffusione rimangano costanti. Le sospensioni di riferimento devono pre-

sentare un grado di torbidità costante e devono essere preparate nelle stesse condizioni del campione da analizzare. L'effetto Tyndall dipende sia dal numero delle particelle che dalle loro dimensioni. Le misurazioni nefelometriche sono più affidabili a valori più bassi di torbidità, dove vi è una relazione lineare tra i valori di torbidità espressi in Unità di Torbidità Nefelometrica (UTN) ed i relativi segnali provenienti dal rivelatore. Con l'aumentare del grado di torbidità, non tutte le particelle sono esposte alla luce incidente e inoltre la radiazione diffusa dalle altre particelle è ostacolata nel tragitto verso il rivelatore. I valori nefelometrici più alti a cui possono essere effettuate misurazioni affidabili sono dell'ordine di 1750-2000 UTN. La linearità deve essere dimostrata costruendo una curva di calibrazione a partire da almeno 4 concentrazioni.

Turbidimetria

La torbidità esprime la proprietà ottica che fa sì che, a seguito della interazione tra la luce e le particelle in sospensione in un liquido, la luce viene diffusa e assorbita più che trasmessa in linea retta attraverso il campione. La quantità di materiale solido in sospensione può essere determinata mediante la misurazione della luce trasmessa. Si ottiene una relazione lineare tra la torbidità e la concentrazione quando le dimensioni delle particelle nella sospensione sono uniformi ed omogenee. Questo avviene solo nelle sospensioni altamente diluite contenenti particelle di piccole dimensioni. La linearità tra la torbidità e la concentrazione deve essere stabilita costruendo una curva di calibrazione a partire da almeno 4 concentrazioni.

Turbidimetria relativa

Nella turbidimetria relativa viene determinato il rapporto tra la misurazione della luce trasmessa e la misurazione della luce diffusa a 90°. Questa procedura permette di compensare la riduzione della luce dovuta alla colorazione del campione. L'influenza della colorazione del campione può anche essere eliminata utilizzando come sorgente luminosa dello strumento un diodo che emette radiazioni infrarosse (IR-LED) a 860 nm. I rivelatori a fotodiodo dello strumento ricevono e misurano da una parte la luce emergente diffusa ad un angolo di 90° e dall'altra la luce diffusa verso il fronte del campione (luce riflessa) e la luce trasmessa direttamente attraverso il campione. I risultati della misurazione sono espressi in UTN (rapporto) e sono ottenuti calcolando il rapporto tra i valori della luce diffusa a 90° e la somma

delle componenti della luce diffusa in avanti e della luce trasmessa. Nella turbidimetria relativa l'influenza della luce parassita diventa trascurabile. I nefelometri sono utilizzati per misurare il grado di opalescenza dei liquidi incolore.

Le misurazioni effettuate sulle sospensioni di riferimento I-IV con un turbidimetro relativo mostrano una relazione lineare tra le concentrazioni ed i valori misurati in UTN. Le sospensioni di riferimento I-IV (Ph. Eur.) possono essere usate per calibrare lo strumento.

Tabella 2.2.1.-2

Sospensioni di formazina	Valori di opalescenza (UTN)
Sospensione di riferimento I	3
Sospensione di riferimento II	6
Sospensione di riferimento III	18
Sospensione di riferimento IV	30
Standard di opalescenza	60
Sospensione opalescente primaria	4000

Determinazione strumentale dell'opalescenza

I requisiti nelle monografie sono espressi con riferimento al metodo visivo per confronto con le definite sospensioni di riferimento. I metodi strumentali possono comunque essere adoperati per verificare la conformità ai requisiti delle monografie una volta stabilita l'adeguatezza dello strumento come descritto in seguito e dopo aver eseguito la calibrazione con le sospensioni di riferimento I-IV e con l'*acqua R* o il solvente usato.

Apparecchiatura. I turbidimetri relativi o i nefelometri con la possibilità di selezionare la modalità a rapporto usano come sorgente luminosa una lampada con filamento di tungsteno con una sensibilità spettrale di circa 550 nm funzionante ad una temperatura di colore del filamento di 2700 K o un IR-LED con una emissione massima a 860 nm e con una larghezza di banda spettrale di 60 nm. Possono anche essere adoperate altre sorgenti luminose adeguate. I fotodiodi al silicio e i fotomoltiplicatori sono comunemente usati come rivelatori e registrano le variazioni della intensità della luce diffusa o trasmessa attraverso il campione. La luce diffusa a $90 \pm 2,5^\circ$ viene rivelata dal rivelatore primario. Altri rivelatori sono quelli che rivelano le radiazioni retro-diffuse o diffuse in avanti oltre alla luce trasmessa. Gli strumenti utilizzati vengono calibrati con standard di torbidità nota e sono idonei alla determinazione automatica della torbidità. I risultati delle analisi espressi in

UTN sono forniti direttamente dallo strumento e confrontati con le specifiche della monografia considerata.

Gli strumenti compatibili con le seguenti specifiche sono ritenuti adatti.

Unità di Misura: UTN. L'UTN è definita in base alla torbidità di uno standard di riferimento primario di formazina. L'UTF (Unità di Torbidità della Formazina) o l'UNF (Unità Nefelometrica della Formazina) sono ugualmente usate e sono equivalenti all'UTN a livelli bassi (fino a 40 UTN). Queste unità sono adottate in tutti e tre i metodi strumentali: nefelometria, turbidimetria e turbidimetria relativa.

Intervallo di misura: 0,01 - 1100 UTN

Risoluzione: 0,01 UTN nell'intervallo 0-10 UTN, 0,1 UTN nell'intervallo 10-100 UTN ed 1 UTN per valori > 100 UTN. Lo strumento viene calibrato e controllato con standard di riferimento di formazina.

Accuratezza: 0-10 UTN: \pm (2 per cento del valore letto +0,01) UTN. 10 - 1000 UTN: \pm 5 per cento.

Ripetibilità: 0-10 UTN: \pm 0,01 UTN. 10-1000 UTN: \pm 2 per cento del valore misurato.

Calibrazione: con 4 sospensioni di riferimento di formazina nell'intervallo di misura. Possono essere adoperate le sospensioni di riferimento descritte in questo capitolo o gli standard di riferimento appropriati calibrati per confronto con le sospensioni di riferimento primarie.

Luce parassita: questa è una notevole fonte di errore nelle misurazioni turbidimetriche a valori bassi; la luce parassita raggiunge il rivelatore di un sistema ottico, ma non viene dal campione che ha meno di 0,15 UTN nell'intervallo 0-10 UTN, e meno di 0,5 UTN nell'intervallo 10-1000 UTN.

Gli strumenti che rispettano le suddette caratteristiche e che sono stati tarati usando le sospensioni di riferimento precedentemente descritte (Metodo visivo) possono essere utilizzati in alternativa alla valutazione visiva per la determinazione della conformità alle specifiche delle monografie.

Gli strumenti con caratteristiche (intervallo di misura, risoluzione, accuratezza e ripetibilità) diverse da quelle menzionate precedentemente possono essere ugualmente utilizzati a patto che siano stati sufficientemente convalidati e siano idonei all'uso previsto. La metodologia di analisi per una particolare sostanza o prodotto da analizzare deve essere ugualmente convalidata al

Grado di colorazione dei liquidi

fine di dimostrarne la sua idoneità analitica. Lo strumento e la metodologia devono essere adatti alle proprietà del prodotto da esaminare.

2.2.2. GRADO DI COLORAZIONE DEI LIQUIDI

Per apprezzare il grado di colorazione dei liquidi nelle sfumature di colore bruno-giallo-rosso si effettua, come specificato nella monografia, uno dei due procedimenti seguenti.

Una soluzione è *incolora* se ha l'aspetto dell'*acqua R* o del solvente o se non è più intensamente colorata della soluzione di riferimento B₉.

METODO I

In tubi da saggio identici, di vetro neutro, incolore, trasparenti ed aventi un diametro esterno di 12 mm, confrontare 2,0 ml del liquido in esame con 2,0 ml di *acqua R* o di solvente oppure della soluzione di riferimento (vedi Tabelle delle soluzioni di riferimento) indicata nella monografia. Confrontare i colori osservando orizzontalmente per trasparenza contro fondo bianco alla luce diffusa del giorno.

METODO II

In tubi da saggio identici, di vetro neutro, incolore, trasparenti ed aventi un diametro interno compreso tra 15 mm e 25 mm ed a fondo piatto, confrontare il liquido in esame con *acqua R* o con il solvente, oppure con la soluzione di riferimento (vedi Tabelle delle soluzioni di riferimento), come indicato nella monografia; la colonna del liquido è alta 40 mm. Confrontare i colori osservando verticalmente per trasparenza contro fondo bianco alla luce diffusa del giorno.

REATTIVI

Soluzioni primarie

Soluzione gialla. Disciogliere 46 g di *ferro(-ico) cloruro R* in circa 900 ml di una miscela di 25 ml di *acido cloridrico R* e 975 ml di *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con la stessa miscela. Titolare e portare poi la soluzione ad un contenuto di 45,0 mg di $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ per millilitro mediante aggiunta della stessa miscela acida. Proteggere la soluzione dalla luce.

Titolazione. Porre in una beuta con tappo a smeriglio della capacità di 250 ml, 10,0 ml di soluzione, 15 ml di *acqua R*, 5 ml di *acido cloridrico R* e 4 g di *potassio ioduro R*, chiudere la beuta, lasciare a riposo per 15 min al buio e aggiungere 100 ml di *acqua R*. Titolare lo iodio liberato con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando, come indicatore, 0,5 ml di *amido soluzione R*, aggiunto alla fine della titolazione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 27,03 mg di $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Soluzione rossa. Disciogliere 60 g di *cobalto cloruro R* in circa 900 ml di una miscela di 25 ml di *acido cloridrico R* e di 975 ml di *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con la stessa miscela. Titolare e aggiustare la soluzione ad un contenuto di 59,5 mg di $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ per millilitro mediante aggiunta della stessa miscela acida.

Titolazione. Porre in una beuta con tappo a smeriglio della capacità di 250 ml, 5,0 ml della soluzione, 5 ml di *idrogeno perossido soluzione diluita R* e 10 ml di una soluzione (300 g/l) di *sodio idrossido R*. Bollire cautamente per 10 min, lasciar raffreddare e aggiungere 60 ml di *acido solforico diluito R* e 2 g di *potassio ioduro R*. Chiudere la beuta e disciogliere il precipitato agitando cautamente. Titolare lo iodio liberato con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando, come indicatore, 0,5 ml di *amido soluzione R* aggiunto alla fine della titolazione. Il punto di fine titolazione è raggiunto quando la soluzione vira al rosa.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 23,79 mg di $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Soluzione blu. Disciogliere 63 g di *rame(-ico) solfato R* in circa 900 ml di una miscela di 25 ml di *acido cloridrico R* e di 975 ml di *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con la stessa miscela. Titolare e aggiustare la soluzione ad un contenuto di 62,4 mg di $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ per millilitro mediante aggiunta della suddetta soluzione acida.

Titolazione. Porre in una beuta con tappo a smeriglio della capacità di 250 ml, 10,0 ml della soluzione, 50 ml di *acqua R*, 12 ml di *acido acetico diluito R* e 3 g di *potassio ioduro R*. Titolare lo iodio liberato con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando, come indicatore, 0,5 ml di *amido soluzione R* aggiunto alla fine della titolazione. Il punto di fine titolazione è raggiunto quando la soluzione mostra un leggero colore marrone pallido.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 24,97 mg di $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Soluzioni standard

Usando le tre soluzioni primarie, preparare le cinque soluzioni standard nel modo seguente:

Tabella 2.2.2.-1.

Soluzione standard	Volume in millilitri			
	Soluzione gialla	Soluzione rossa	Soluzione blu	Acido cloridrico (10 g/l HCl)
B (bruna)	3,0	3,0	2,4	1,6
GB (giallo-brunastra)	2,4	1,0	0,4	6,2
G (gialla)	2,4	0,6	0,0	7,0
GV (giallo-verdastra)	9,6	0,2	0,2	0,0
R (rossa)	1,0	2,0	0,0	7,0

Soluzioni di riferimento per i Metodi I e II

Usando le cinque soluzioni standard, preparare le seguenti soluzioni di riferimento.

Tabella 2.2.2.-2.- Soluzioni di riferimento B

Soluzione di riferimento	Volume in millilitri	
	Soluzione standard B	Acido cloridrico (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

Tabella 2.2.2.-3.- Soluzioni di riferimento GB

Soluzione di riferimento	Volume in millilitri	
	Soluzione standard GB	Acido cloridrico (10 g/l HCl)
GB ₁	100,0	0,0
GB ₂	75,0	25,0
GB ₃	50,0	50,0
GB ₄	25,0	75,0
GB ₅	12,5	87,5
GB ₆	5,0	95,0
GB ₇	2,5	97,5

Tabella 2.2.2.-4.- Soluzioni di riferimento G

Soluzione di riferimento	Volume in millilitri	
	Soluzione standard G	Acido cloridrico (10 g/l HCl)
G ₁	100,0	0,0
G ₂	75,0	25,0
G ₃	50,0	50,0
G ₄	25,0	75,0
G ₅	12,5	87,5
G ₆	5,0	95,0
G ₇	2,5	97,5

Metodi di Analisi

Tabella 2.2.2.-5.- Soluzioni di riferimento GV

Soluzione di riferimento	Volume in millilitri	
	Soluzione standard GV	Acido cloridrico (10 g/l HCl)
GV ₁	25,0	75,0
GV ₂	15,0	85,0
GV ₃	8,5	91,5
GV ₄	5,0	95,0
GV ₅	3,0	97,0
GV ₆	1,5	98,5
GV ₇	0,75	99,25

Tabella 2.2.2.-6.- Soluzioni di riferimento R

Soluzione di riferimento	Volume in millilitri	
	Soluzione standard R	Acido cloridrico (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

Determinazione potenziometrica del pH

Conservazione

Per il Metodo I, le soluzioni di riferimento possono essere conservate al riparo dalla luce in tubi di vetro incolore, trasparente e neutro, saldati ed aventi un diametro esterno di 12 mm. Per il Metodo II preparare le soluzioni di riferimento al momento dell'uso a partire dalle soluzioni standard.

2.2.3. DETERMINAZIONE POTENZIOMETRICA DEL pH

Il pH è un numero che rappresenta convenzionalmente la concentrazione degli ioni idrogeno di una soluzione acquosa. Per ragioni pratiche la sua definizione è sperimentale. Il pH di una soluzione in esame si esprime in riferimento con quello di una soluzione di riferimento (pH_S) secondo l'equazione:

$$pH = pH_S - \frac{E - E_S}{k}$$

dove E è il potenziale, espresso in volt, della cella contenente la soluzione in esame ed E_S è il potenziale, espresso in volt, della cella contenente la soluzione a

pH noto (pH_S), k è la variazione di potenziale per variazione di una unità di pH, espressa in volts e calcolata mediante l'equazione di Nernst.

Tabella 2.2.3.-1.- Valori di k a differenti temperature

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

La determinazione potenziometrica del pH si effettua misurando la differenza di potenziale tra due elettrodi appropriati immersi nella soluzione in esame; uno di questi è un elettrodo sensibile agli ioni idrogeno (generalmente un elettrodo a vetro) e l'altro un elettrodo di riferimento (ad esempio l'elettrodo a calomelano saturo).

Apparecchio. L'apparecchio di misura è un voltmetro con una resistenza di entrata almeno 100 volte superiore a quella degli elettrodi utilizzati. È di solito graduato in unità di pH ed ha una sensibilità tale da discriminare almeno 0,05 unità di pH oppure almeno 0,003 V.

Tabella 2.2.3. -2.- pH delle soluzioni tampone di riferimento a temperature diverse

Temperatura °C	Potassio tetraossalato 0,05 M	Potassio tartrato acido (saturo a 25 °C)	Potassio citrato monobasico 0,05 M	Potassio ftalato acido 0,05 M	Potassio fosfato monobasico 0,025 M + Sodio fosfato dibasico 0,025 M	Potassio fosfato monobasico 0,0087 M + Sodio fosfato dibasico 0,0303 M	Disodio tetraborato 0,01 M	Sodio carbonato 0,025 M + Sodio bicarbonato 0,025 M	Calcio idrossido saturo a 25 °C
	$C_4H_3KO_8 \cdot 2H_2O$	$C_4H_5KO_6$	$C_6H_7KO_7$	$C_8H_5KO_4$	$KH_2PO_4 + Na_2HPO_4$	$KH_2PO_4 + Na_2HPO_4$	$Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$	$Na_2CO_3 + NaHCO_3$	$Ca(OH)_2$
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
$\frac{\Delta pH}{\Delta t} (1)$	+ 0,001	- 0,0014	- 0,0022	+ 0,0012	- 0,0028	- 0,0028	- 0,0082	- 0,0096	- 0,034

(1) Variazioni di pH per gradi Celsius

Metodo. Se non è diversamente prescritto nella monografia, tutte le misure vengono effettuate alla stessa temperatura (da 20 °C a 25 °C). La tabella 2.2.3.-2 indica le variazioni di pH rispetto alla temperatura per un certo numero di soluzioni tampone di riferimento usate per la taratura. Per una correzione della temperatura, quando necessario, attenersi alle istruzioni del costruttore. L'apparecchio viene tarato con la soluzione tampone di potassio ftalato acido (standard primario) e con un'altra soluzione tampone avente diverso pH (preferibilmente una di quelle mostrate nella Tabella 2.2.3.-2). Il pH di valore intermedio di una terza soluzione tampone, letto sulla scala, non deve differire più di 0,05 unità di pH dal valore corrispondente a questa soluzione. Immergere gli elettrodi nella soluzione in esame ed effettuare la lettura nelle stesse condizioni usate per le soluzioni tampone.

Quando l'apparecchio è usato frequentemente, i controlli devono essere effettuati ad intervalli regolari. In caso contrario il controllo deve essere effettuato prima di ogni misura.

Tutte le soluzioni in esame e le soluzioni tampone di riferimento devono essere preparate usando acqua esente da anidride carbonica R.

Preparazione delle soluzioni tampone di riferimento

Potassio tetraossalato 0,05 M. Disciogliere 12,61 g di $C_4H_3KO_8 \cdot 2H_2O$ in acqua esente da anidride carbonica R, e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Potassio tartrato acido saturo a 25 °C. Agitare vigorosamente un eccesso di $C_4H_5KO_6$ con acqua esente da anidride carbonica R a 25 °C. Filtrare o decantare. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Potassio citrato monobasico 0,05 M. Disciogliere 11,41 g di $C_6H_7KO_7$ in acqua esente da anidride carbonica R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Potassio ftalato acido 0,05 M. Disciogliere 10,13 g di $C_8H_5KO_4$, essiccati per 1 h a 110 ± 2 °C, in acqua esente da anidride carbonica R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Potassio fosfato monobasico 0,025 M + sodio fosfato dibasico 0,025 M. Disciogliere 3,39 g di KH_2PO_4 e 3,53 g di Na_2HPO_4 entrambi essiccati per 2 h a 120 ± 2 °C, in acqua esente da anidride carbonica R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Potassio fosfato monobasico 0,0087 M + sodio fosfato dibasico 0,0303 M. Disciogliere 1,18 g di KH_2PO_4 e 4,30 g di Na_2HPO_4 , essiccati per 2 h a 120 ± 2 °C, in acqua esente da anidride carbonica R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Disodio tetraborato 0,01 M. Disciogliere 3,80 g di $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ in acqua esente da anidride carbonica R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Conservare al riparo dalla anidride carbonica atmosferica.

Sodio carbonato 0,025 M + sodio bicarbonato 0,025 M. Disciogliere 2,64 g di Na_2CO_3 e 2,09 g di $NaHCO_3$ in acqua esente da anidride carbonica R e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Conservare al riparo dall'anidride carbonica atmosferica.

Calcio idrossido saturo a 25 °C. Agitare un eccesso di calcio idrossido R con acqua esente da anidride carbonica R e decantare a 25 °C. Conservare al riparo dell'anidride carbonica atmosferica.

Conservazione

Conservare le soluzioni tampone in recipienti chimicamente resistenti ed ermeticamente chiusi come ad esempio bottiglie di vetro tipo I o contenitori di plastica adatti per soluzioni acquose.

Densità relativa

2.2.4. CORRELAZIONE TRA REAZIONE DELLA SOLUZIONE, pH APPROSSIMATO E COLORAZIONE DI ALCUNI INDICATORI

Tabella 2.2.4.-1.

Reazione	pH	Indicatore	Colore
Alcalina	> 8	<i>Tornasole cartina R</i> <i>Blu timolo soluzione R (0,05 ml)</i>	Blu Grigio o blu violetto
Debolmente alcalina	8,0-10,0	<i>Fenolftaleina cartina R (0,05 ml)</i> <i>Blu timolo soluzione R (0,05 ml)</i>	Incolore o rosa Grigio
Fortemente alcalina	> 10	<i>Fenolftaleina cartina R</i> <i>Blu timolo soluzione R (0,05 ml)</i>	Rosso Blu violetto
Neutra	6,0-8,0	<i>Rosso metile soluzione R</i> <i>Rosso fenolo soluzione R (0,05 ml)</i>	Giallo
Neutra al rosso metile	4,5-6,0	<i>Rosso metile soluzione R</i>	Rosso-arancione
Neutra alla fenolftaleina	< 8,0	<i>Fenolftaleina soluzione R (0,05 ml)</i>	Incolore, rosa o rosso per aggiunta di 0,05 ml di base 0,1 M
Acida	< 6	<i>Rosso metile soluzione R</i> <i>Blu bromotimolo soluzione RI</i>	Arancio o rosso Giallo
Debolmente acida	4,0-6,0	<i>Rosso metile soluzione R</i> <i>Verde bromocresolo soluzione R</i>	Arancio Verde o blu
Fortemente acida	< 4	<i>Rosso Congo cartina R</i>	Verde o blu

2.2.5. DENSITÀ RELATIVA

La densità relativa $d_{t_2}^{t_1}$ è il rapporto tra la massa di un certo volume di una sostanza a temperatura t_1 e la massa di un volume uguale di acqua a temperatura t_2 .

Salvo indicazione contraria, la densità relativa usata è d_{20}^{20} . La densità relativa è anche comunemente espressa come d_4^{20} . Può essere usata anche la densità ρ_{20} , definita come la massa di una unità di volume della sostanza a 20 °C, espressa in chilogrammi per metro cubo o in grammi per centimetro cubo ($1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} = 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$).

Queste quantità sono legate dalle equazioni seguenti dove la densità è espressa in grammi per centimetro cubo:

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

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

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

La densità relativa o la densità vengono misurate con la precisione al numero di decimali prescritto nella monografia usando un picnometro (solidi o liquidi), una bilancia idrostatica (solidi), un densimetro (liquidi) o un densimetro digitale con un trasduttore oscillante (liquidi e gas). Se la determinazione è fatta per pesata, la spinta statica dell'aria, che può introdurre un errore di una unità sulla terza decimale, non viene presa in considerazione. Se viene utilizzato un densimetro, la spinta statica dell'aria non ha alcuna influenza.

Densimetro munito di un trasduttore oscillante. Lo strumento è costituito da:

- un tubo a U, generalmente in vetro borosilicato, che contiene il liquido da esaminare,
- un sistema di eccitazione elettromagnetica o piezoelettrica che fa oscillare il tubo come un cantilever oscillante ad una frequenza caratteristica che dipende dalla densità del liquido in esame,
- un mezzo di misura del periodo di oscillazione (T) che può essere convertito dall'apparecchio per fornire una lettura diretta della densità o usato per calcolare la densità utilizzando le costanti A e B descritte di seguito.

La frequenza di risonanza (f) è una funzione della costante di elasticità (c) e della massa (m) del sistema:

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

Conseguentemente:

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

dove:

M = massa del tubo,

V = volume interno del tubo.

L'introduzione di 2 costanti $A = c/(4\pi^2 \times V)$ e $B = M/V$, permette di ottenere l'equazione classica per il trasduttore oscillante:

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

Le costanti A e B sono calcolate utilizzando lo strumento con il tubo ad U riempito con 2 differenti campioni a densità nota, per esempio, *acqua R* degassata e aria.

Le misure di controllo quotidiane vengono effettuate utilizzando *acqua R* degassata.

I risultati visualizzati con la misura di controllo usando *acqua R* degassata non devono deviare dal valore di riferimento ($\rho_{20} = 0,998203 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $d_{20}^{20} = 1,000000$) di non più del suo errore specificato. Per esempio, un apparecchio il cui errore è indicato a $\pm 0,0001 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ deve visualizzare $0,9982 \pm 0,0001 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ per essere adatto per ulteriori misure. In caso contrario è necessaria una correzione. Regolarmente si effettua una calibrazione con materiali di riferimento certificati. Le misure sono effettuate utilizzando la stessa procedura della calibrazione.

Il liquido da esaminare è equilibrato in un termostato a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ prima dell'introduzione nel tubo, se necessario, per evitare la formazione di bolle e ridurre il tempo richiesto per la misura.

Fattori che influenzano l'accuratezza includono:

- l'uniformità della temperatura attraverso il tubo,
- la non linearità in un intervallo di densità,
- gli effetti parassiti della risonanza,
- la viscosità, per la quale soluzioni aventi una viscosità superiore a quella del calibrante hanno una densità che è, apparentemente, più alta del valore vero.

Gli effetti della non linearità e della viscosità possono essere evitati utilizzando calibranti che hanno densità e viscosità vicine a quelle del liquido da esaminare (± 5 per cento per la densità, ± 50 per cento per la viscosità). I densimetri possono avere funzioni per la correzione automatica della viscosità e per la correzione di errori derivanti da variazioni di temperatura e dalla non linearità.

La precisione è funzione della ripetibilità e della stabilità della frequenza dell'oscillatore che dipende dalla stabilità del volume, della massa e della costante di elasticità della cella.

I densimetri permettono di ottenere misure con un errore dell'ordine da $1 \times 10^{-3} \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ a $1 \times 10^{-5} \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ e una ripetibilità da $1 \times 10^{-4} \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ a $1 \times 10^{-6} \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

2.2.6. INDICE DI RIFRAZIONE

L'indice di rifrazione di un mezzo rispetto all'aria è uguale al rapporto tra il seno dell'angolo di incidenza di un raggio luminoso nell'aria ed il seno dell'angolo di rifrazione del raggio rifratto nel mezzo considerato.

Se non è diversamente prescritto, l'indice di rifrazione viene determinato a $20 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ con riferimento alla lunghezza d'onda della riga D del sodio ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$); il simbolo è n_D^{20} .

I rifrattometri normalmente determinano l'angolo limite. In questi apparecchi la parte essenziale è un prisma, ad indice di rifrazione conosciuto, messo a contatto con il liquido da esaminare.

Per tarare l'apparecchio usare materiali di riferimento certificati.

Quando si usa la luce bianca, il rifrattometro deve avere un sistema di compensazione. L'apparecchio dà letture esatte almeno alla terza cifra decimale e possiede un dispositivo che permette di lavorare alla temperatura prescritta. Il termometro è graduato ad intervalli di $0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ o meno.

2.2.7. POTERE ROTATORIO

Il potere rotatorio è la proprietà posseduta dalle sostanze chirali di fare ruotare il piano di polarizzazione della luce polarizzata.

La rotazione ottica è considerata essere positiva (+) per le sostanze destrorotatorie (i. e. quelle che ruotano il piano di polarizzazione in senso orario) e negativa (-) per le sostanze levorotatorie.

Il potere rotatorio specifico $[\alpha_m]_{\lambda}^t$ è la rotazione, espressa in radianti (rad) e misurata alla temperatura t e alla lunghezza d'onda λ , data da uno strato dello spessore di 1 metro di un liquido o di una soluzione contenente 1 chilogrammo di sostanza otticamente attiva per metro cubo di soluzione. Per ragioni pratiche, il potere rotatorio specifico $[\alpha_m]_{\lambda}^t$ è comunemente espresso in milliradianti per metri quadrati per chilogrammo ($\text{mrad} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$).

La Farmacopea adotta le seguenti definizioni convenzionali.

L'angolo di rotazione ottica di un liquido non diluito è l'angolo di rotazione α , espresso in gradi ($^{\circ}$), del piano di polarizzazione alla lunghezza d'onda della riga D del sodio ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$), misurato a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, usando uno strato di 1 decimetro. Nel caso di una soluzione, il metodo di preparazione è stabilito nella monografia.

Il potere rotatorio specifico $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ di un liquido è l'angolo di rotazione α , espresso in gradi ($^{\circ}$), del piano di polarizzazione alla lunghezza d'onda della riga D del sodio ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$), misurato a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, sulla sostanza liquida in esame, riferito ad uno strato di 1 decimetro e diviso per la densità espressa in grammi per centimetro cubo.

Il potere rotatorio specifico $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ di una sostanza in soluzione è l'angolo di rotazione α , espresso in gradi ($^{\circ}$), del piano di polarizzazione alla lunghezza d'onda della riga D del sodio ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$), misurato a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, su una soluzione della sostanza in esame, riferito ad uno strato di 1 decimetro e ad una concentrazione di 1 grammo di sostanza per millilitro. Il potere rotatorio specifico di una sostanza in soluzione viene sempre riferito ad un determinato solvente e ad una data concentrazione.

Nel sistema convenzionale adottato dalla Farmacopea, il potere rotatorio specifico è espresso mediante il suo valore senza unità; le unità attuali, gradi per millilitri per decimetro per grammo $[(^{\circ}) \cdot \text{ml} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}]$, sono sottintese.

Il fattore di conversione dal Sistema Internazionale a quello della Farmacopea è il seguente:

$$[\alpha_m]_{\lambda}^t = [\alpha]_{\lambda}^t \times 0,1745$$

In certi casi precisati, nella monografia, l'angolo di rotazione può essere misurato a temperature diverse da $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e ad altre lunghezze d'onda.

Il polarimetro deve permettere letture di circa $0,01^{\circ}$. Il controllo della scala dell'apparecchio si esegue generalmente facendo uso di lame di quarzo certificate. La linearità della scala può essere verificata con l'impiego di soluzioni di saccarosio.

Metodo. Se non diversamente indicato, determinare lo zero del polarimetro e l'angolo di rotazione della luce polarizzata alla lunghezza d'onda della riga D del sodio ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$) a $20 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Le misure possono essere effettuate a temperature diverse solo se la monografia indica la correzione di temperatura da apportare al potere rotatorio misurato.

Determinare lo zero dell'apparecchio con il tubo chiuso, vuoto nel caso di sostanze liquide, o riempito con il solvente prescritto nel caso di sostanze solide.

Calcolare il potere rotatorio specifico applicando le seguenti formule.

$$\text{Per le sostanze liquide non diluite: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot \rho_{20}}$$

$$\text{Per le sostanze in soluzione: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{1000\alpha}{l \cdot c}$$

dove c è la concentrazione della soluzione in g/l.

Calcolare il contenuto c in g/l o il contenuto c' in per cento m/m di una sostanza disciolta usando le seguenti formule:

$$c = \frac{1000\alpha}{l \cdot [\alpha]_{\text{D}}^{20}} \quad c' = \frac{100\alpha}{l \cdot [\alpha]_{\text{D}}^{20} \cdot \rho_{20}}$$

α = angolo di rotazione, espresso in gradi, letto a $20 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$;

l = lunghezza, in decimetri, del tubo polarimetrico;

ρ_{20} = densità a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in grammi per centimetro cubo. Per gli scopi della Farmacopea, la densità è sostituita dalla densità relativa (2.2.5);

2.2.8. VISCOSITÀ

La viscosità dinamica o coefficiente di viscosità η è la forza tangenziale riferita all'unità di superficie, detta forza di taglio τ , ed espressa in pascal, necessaria per spostare, parallelamente al piano di scorrimento, uno strato di liquido di 1 metro quadrato alla velocità (v) di 1 metro al secondo, rispetto ad uno strato parallelo situato ad una distanza (x) di 1 metro.

Il rapporto dv/dx costituisce un gradiente di velocità e rappresenta la velocità di taglio D , espressa in secondi reciproci (s^{-1}), per cui $\eta = \tau/D$.

L'unità della viscosità dinamica è il pascal-secondo (Pa·s). Il sottomultiplo più correntemente usato è il millipascal-secondo (mPa·s).

La viscosità cinematica ν , espressa in metri quadrati per secondo, si ottiene dividendo la viscosità dinamica η per la densità ρ del liquido, espressa in chilogrammi per metro cubo, misurata alla stessa temperatura, $\nu = \eta/\rho$. La viscosità cinematica è normalmente espressa in millimetri quadrati per secondo.

Un viscosimetro a capillare può essere usato per la determinazione della viscosità di liquidi newtoniani mentre un viscosimetro a corpo rotante può essere usato per la determinazione della viscosità dei liquidi newtoniani e non-newtoniani.

Altri viscosimetri possono essere impiegati, a condizione che la precisione non sia inferiore a quella ottenuta con i viscosimetri di seguito descritti.

2.2.9. METODO DEL VISCOSIMETRO A CAPILLARE

La determinazione della viscosità usando un appropriato viscosimetro capillare viene effettuata alla temperatura di $20 \pm 0,1$ °C, salvo indicazione contraria. Il tempo necessario perché il livello del liquido si sposti da un segno all'altro si misura con un cronometro a un quinto di secondo.

Il risultato è valido solo se le due letture consecutive non differiscono più dell'1 per cento. La media di non meno di tre letture fornisce il tempo di deflusso del liquido in esame.

Calcolare la viscosità dinamica η (2.2.8) in millipascal secondi, usando la formula:

$$\eta = k\rho t$$

k = costante del viscosimetro espressa in millimetri quadrati per secondo quadrato,

ρ = densità del liquido in esame espressa in milligrammi per millimetro cubo ed ottenuta moltiplicando la sua densità relativa (d_{20}^{20}) per 0,9982,

t = tempo di deflusso, in secondi, del liquido in esame.

La costante k si determina usando un appropriato liquido per la taratura del viscosimetro.

Per calcolare la viscosità cinematica ($mm^2 \cdot s^{-1}$) usare la formula seguente: $\nu = kt$.

Tabella 2.2.9.-1.

Numero di grandezza del viscosimetro	Costante nominale del viscosimetro	Intervallo della viscosità cinematica	Diametro interno del tubo R	Volume del bulbo C	Diametro interno del bulbo N
	mm ² ·s ⁻²	mm ² ·s ⁻¹	mm (±2%)	ml (±5%)	mm
1	0,01	3,5 - 10	0,64	5,6	2,8 - 3,2
1A	0,03	6 - 30	0,84	5,6	2,8 - 3,2
2	0,1	20 - 100	1,15	5,6	2,8 - 3,2
2A	0,3	60 - 300	1,51	5,6	2,8 - 3,2
3	1,0	200 - 1000	2,06	5,6	3,7 - 4,3
3A	3,0	600 - 3000	2,74	5,6	4,6 - 5,4
4	10	2000 - 10000	3,70	5,6	4,6 - 5,4
4A	30	6000 - 30000	4,07	5,6	5,6 - 6,4
5	100	20000 - 100000	6,76	5,6	6,8 - 7,5

La determinazione può essere fatta utilizzando un apparecchio (vedi figura 2.2.9.-1) che corrisponde alle specifiche descritte nella Tabella (2.2.9.-1)⁽¹⁾.

Il tempo minimo di deflusso deve essere di 350 s per il viscosimetro di grandezza no. 1 e di 200 s per tutte le altre grandezze.

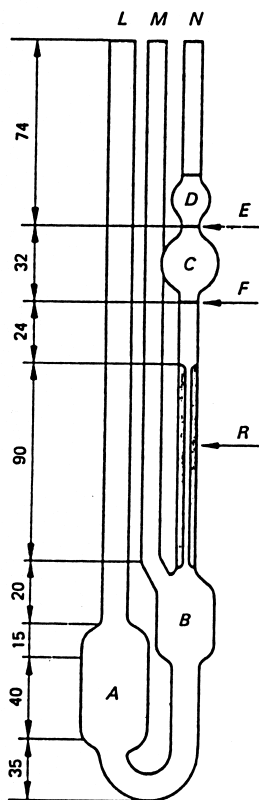


Figura 2.2.9.- 1.- *Viscosimetro a livello sospeso*
Dimensioni in millimetri

(1) La Farmacopea Europea descrive il sistema proposto dall'Organizzazione Internazionale per la Standardizzazione (ISO).

Metodo. Riempire il viscosimetro attraverso il tubo (L) con una quantità sufficiente del liquido in esame, precedentemente portato a 20 °C, se non diversamente prescritto, e riempire il bulbo (A), ma in modo che il livello del liquido nel bulbo (B) sia al di sotto dell'orifizio del tubo di ventilazione (M). Immergere il viscosimetro in un bagno ad acqua a 20 ± 0,1 °C, se non diversamente prescritto, mantenere il viscosimetro in posizione verticale e lasciare a riposo per non meno di 30 min per stabilire l'equilibrio termico. Chiudere il tubo (M) e innalzare il livello del liquido del tubo (N) fino ad una altezza di circa 8 mm superiore al segno (E). Mantenere il liquido a questo livello chiudendo il tubo (N) e aprendo il tubo (M). Aprire il tubo (N) e misurare, con un cronometro a un quinto di secondo, il tempo impiegato dal liquido per scendere dal segno (E) al segno (F).

2.2.10. VISCOSITÀ - METODO DEL VISCOSIMETRO A CORPO ROTANTE

Il principio del metodo è basato sulla misura della forza (coppia) che agisce su un rotore quando ruota a velocità angolare costante (velocità rotazionale) in un liquido. I viscosimetri rotazionali vengono utilizzati per misurare la viscosità di liquidi newtoniani (viscosità indipendente dalla forza di taglio) o non-newtoniani (viscosità dipendente dalla forza di taglio o viscosità apparente). I viscosimetri rotazionali possono essere divisi in 2 gruppi, chiamati viscosimetri assoluti e viscosimetri relativi. Nei viscosimetri assoluti il flusso nella geometria di misura adottata è ben definito. Le misure portano a valori di viscosità assoluta che possono essere confrontati con altri valori assoluti. Nei viscosimetri relativi il flusso nella geometria di misura non è definito. Le misure portano a valori di viscosità relativa che non possono essere confrontati con valori assoluti o altri valori relativi se non determinati con lo stesso metodo viscosimetrico.

Per definiti campi di viscosità, come per diverse velocità rotazionali, sono disponibili sistemi di misura diversi.

APPARECCHIATURE

I seguenti tipi di strumenti sono i più comunemente utilizzati.

VISCOSIMETRI A CILINDRI CONCENTRICI (VISCOSIMETRI ASSOLUTI)

Nel viscosimetro a cilindri concentrici (o coassiali) la viscosità viene determinata ponendo il liquido nell'intercapedine che separa il cilindro interno da quello esterno. La misura della viscosità può essere eseguita ponendo in rotazione il cilindro interno (viscosimetro tipo Searle, vedi figura 2.2.10.-1) o il cilindro esterno (viscosimetro tipo Couette, vedi figura 2.2.10.-2). In regime di flusso laminare, la viscosità (o viscosità apparente) η , espressa in pascal - secondo è data dalla seguente formula:

$$\eta = \frac{1}{\omega} \left(\frac{M}{4\pi h} \right) \left(\frac{1}{R_i^2} - \frac{1}{R_o^2} \right) = k \frac{M}{\omega}$$

M = coppia che agisce sulla superficie del cilindro in newton-metri,

ω = velocità angolare in radianti per secondo,

h = altezza dell'immersione del cilindro interno nel mezzo liquido, in metri,

R_i = raggio del cilindro interno, in metri,

R_o = raggio del cilindro esterno, in metri.

k = costante dell'apparecchiatura, in radianti per metro cubo.

Per i liquidi non-newtoniani è indispensabile specificare la forza di taglio (τ) o la velocità di taglio (γ) a cui si misura la viscosità. In condizione di intercapedine stretta (condizione soddisfatta nei viscosimetri assoluti) esiste una relazione proporzionale tra M e τ ed anche tra ω e γ :

$$\tau = AM \quad \gamma = B\omega$$

dove A e B sono costanti dello strumento e vengono calcolate con le seguenti espressioni:

- per cilindri concentrici:

$$A = \frac{1R_i^2 + R_0^2}{4\pi h R_i^2 R_0^2} \quad B = \frac{R_i^2 + R_0^2}{R_0^2 - R_i^2}$$

- per cono - piatto:

$$A = \frac{3}{2\pi R^3} \quad B = \frac{1}{\alpha}$$

M = coppia esercitata sulla superficie del cilindro o del cono, in Newton-metri,

ω = velocità angolare in radianti per secondo,

R_i = raggio, in metri, del cilindro interno,

R_0 = raggio, in metri, del cilindro esterno,

R = raggio, in metri, del cono,

h = altezza di immersione del cilindro interno nel mezzo liquido, in metri,

α = angolo tra il piatto ed il cono, in radianti,

τ = forza di taglio, in Pascal (Pa),

γ = velocità di taglio, in secondi reciproci (s^{-1}).

VISCOSIMETRI CONO-PIATTO (VISCOSIMETRI ASSOLUTI)

Nel viscosimetro cono-piatto, il liquido è introdotto nello spazio vuoto tra un disco (piatto) ed un cono formanti un angolo definito. Per misurare la viscosità, può essere posto in rotazione sia il cono sia il disco (vedi figure 2.2.10.-3 e 2.2.10.-4, rispettivamente). In regime di flusso laminare, la viscosità (o viscosità apparente) η , espressa in pascal-secondo, è data dalla seguente formula:

$$\eta = \left(\frac{M}{\omega}\right) \left(\frac{3\alpha}{2\pi R^3}\right) = k \frac{M}{\omega}$$

M = coppia esercitata sulla superficie del piatto o del cono, in newton metri,

ω = velocità angolare in radianti per secondo,

α = angolo tra il piatto ed il cono, in radianti,

R = raggio del cono, in metri,

k = costante dello strumento, in radianti per metro cubo.

Per le costanti A e B dello strumento, vedi quanto indicato per i viscosimetri a cilindri concentrici

VISCOSIMETRI AD ASTA (VISCOSIMETRI RELATIVI)

Nei viscosimetri ad asta, la viscosità viene determinata per rotazione di un corpo mobile (per esempio cilindrico o a forma di disco, come mostrato nelle figure 2.2.10.-5 e 2.2.10.-6 rispettivamente) immerso nel liquido. Il valore della viscosità relativa (o viscosità apparente) può essere calcolato direttamente utilizzando fattori di conversione ricavati da una scala di lettura ad una data velocità di rotazione.

In generale, la costante k dello strumento può essere determinata, a varie velocità di rotazione, utilizzando un liquido, certificato, di calibrazione per viscosimetri. La viscosità η corrisponde allora alla formula

$$\eta = k \frac{M}{\omega}$$

METODO

Misurare la viscosità (o viscosità apparente) seguendo le istruzioni per l'uso del viscosimetro a corpo rotante. La temperatura per misurare la viscosità è indicata nella monografia. Nel caso di sistemi non-newtoniani la monografia precisa il tipo di viscosimetro da usare e, se si usa un viscosimetro assoluto, indica la velocità angolare o la velocità di taglio da utilizzare nella misura. Se non è possibile ottenere esattamente la velocità di taglio indicata, utilizzare una velocità di taglio leggermente più elevata ed una velocità di taglio leggermente più bassa ed interpolare.

Nel caso di viscosimetri relativi, la velocità di taglio attraverso il campione non è omogenea e quindi non può essere definita. In queste condizioni la viscosità di liquidi non-newtoniani determinata con la formula precedente ha carattere relativo che dipende e dalla natura del corpo mobile e dalla velocità angolare come anche dalle dimensioni del contenitore del campione (\varnothing = minimo 80 mm) e dalla immersione del corpo mobile. I valori ottenuti sono paragonabili solamente lavorando, rigorosamente nelle stesse condizioni sperimentali.

Intervallo di distillazione

2.2.11. INTERVALLO DI DISTILLAZIONE

L'intervallo di distillazione è l'intervallo di temperatura, corretta per una pressione di 101,3 kPa (760 Torr), entro il quale un liquido od una determinata frazione di liquido, distilla nelle condizioni seguenti.

Apparecchio. È costituito da (vedi Figura 2.2.11.-1) un pallone da distillazione (A), con un tubo refrigerante rettilineo (B) che si fissa al braccio laterale del pallone e una allunga (C) attaccata alla parte terminale del refrigerante. La parte terminale del refrigerante può, alternativamente, essere piegata e sostituire l'allunga. Un termometro è sistemato nel collo del pallone in modo che l'estremità superiore del serbatoio di mercurio si trovi 5 mm più in basso della giunzione della parete inferiore del tubo laterale. Il termometro è graduato a 0,2 °C e la sua scala copre un intervallo di circa 50 °C.

Durante la determinazione il pallone, incluso il suo collo, è protetto dalle correnti d'aria mediante un appropriato schermo.

Metodo. Porre nel pallone (A) 50,0 ml del liquido in esame e qualche frammento di materiale poroso. Raccogliere il distillato in un cilindro da 50 ml graduato a 1 ml. Un raffreddamento a circolazione d'acqua è indispensabile per i liquidi che distillano al di sotto di 150 °C. Scaldare il pallone in modo da raggiungere rapidamente l'inizio dell'ebollizione e leggere la temperatura al momento in cui la prima goccia del distillato cade nel cilindro. Aggiustare la temperatura in modo

da ottenere una velocità costante di distillazione di 2-3 ml per minuto e leggere la temperatura quando la totalità o la quantità di liquido indicata, misurata a 20 °C, ha distillato.

Correggere le temperature osservate in funzione della pressione barometrica mediante la formula:

$$t_1 = t_2 + k(101,3 - b)$$

t_1 = temperatura corretta;

t_2 = temperatura letta, alla pressione barometrica b ;

k = fattore di correzione (come riportato in Tabella 2.2.11.-1 se il fattore non è dato);

b = pressione barometrica, in chilopascal, durante la distillazione.

Tabella 2.2.11.-1. — *Correzione della temperatura in funzione della pressione*

Temperatura di distillazione	Fattore k di correzione
fino a 100 °C	0,30
tra 100 °C e 140 °C	0,34
tra 140 °C e 190 °C	0,38
tra 190 °C e 240 °C	0,41
sopra i 240 °C	0,45

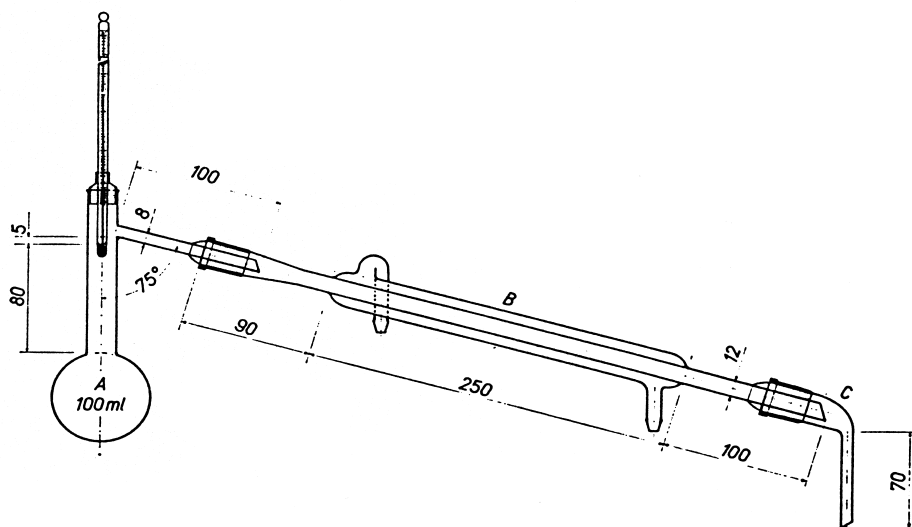


Figura 2.2.11.-1. - *Apparecchio per la determinazione dell'intervallo di distillazione*
Dimensioni in millimetri

2.2.12. PUNTO DI EBOLLIZIONE

Il punto di ebollizione è la temperatura corretta alla quale la tensione di vapore di un liquido è uguale a 101,3 kPa.

Apparecchio. L'apparecchio è quello utilizzato per l'intervallo di distillazione (2.2.11) con la differenza che il termometro è inserito nel collo del pallone in modo che la parte inferiore del bulbo sia a livello con il bordo inferiore del collo del pallone da distillazione, il quale viene appoggiato su piastra di materiale isolante con un foro di 35 mm di diametro.

Metodo. Porre nel pallone (A) 20 ml del liquido in esame e qualche frammento di materiale poroso. Riscaldare in modo da raggiungere rapidamente il punto di ebollizione e leggere la temperatura alla quale il liquido passa dal collo laterale del pallone nel refrigerante.

Correggere la temperatura osservata in funzione della pressione barometrica, mediante la formula:

$$t_1 = t_2 + k(101,3 - b)$$

t_1 = temperatura corretta;

t_2 = temperatura letta, alla pressione barometrica b ;

k = fattore di correzione (come riportato in Tabella 2.2.11.-1 del capitolo Intervallo di distillazione);

b = pressione barometrica, in chilopascal, durante la distillazione.

2.2.13. DETERMINAZIONE DELL'ACQUA PER DISTILLAZIONE

L'apparecchio (vedi Figura 2.2.13.-1) è costituito da un pallone di vetro (A) collegato con un tubo (D) ad un altro tubo cilindrico (B) a sua volta attaccato ad un collettore graduato (E) ad un refrigerante a ricadere (C). Il collettore (E) è graduato a 0,1 ml. Come sorgente di calore è preferibile usare un riscaldatore elettrico con regolatore a reostato o un bagno ad olio. La parte superiore del pallone ed il tubo di raccordo possono essere protetti termicamente.

Metodo. Pulire il tubo collettore ed il refrigerante dell'apparecchio, lavare bene con acqua ed asciugare.

Introdurre nel pallone ben secco 200 ml di *toluene R* e circa 2 ml di *acqua R*. Distillare per 2 h, lasciar raffreddare per circa 30 min e leggere il volume dell'acqua con l'accuratezza di 0,05 ml. Introdurre nel pallone una quantità di sostanza, pesata con l'accuratezza dell'1 per cento, che possa dare circa 2 - 3 ml di acqua. Se la sostanza è di consistenza pastosa, pesare in una navicella costituita da un foglio metallico. Aggiungere alcuni pezzi di materiale poroso e scaldare il pallone dolcemente per 15 min. Quando il toluene inizia a bol-

lire, distillare alla velocità di due gocce circa al secondo finché la maggior parte di acqua è stata raccolta, poi aumentare la velocità di distillazione a circa quattro gocce al secondo. Quando tutta l'acqua è stata raccolta, pulire l'interno del refrigerante con *toluene R*, continuare la distillazione per 5 min, interrompere il riscaldamento e lasciar raffreddare il tubo collettore a temperatura ambiente. Fare cadere le goccioline d'acqua che aderiscono alle pareti del tubo.

Quando l'acqua e il toluene si sono completamente separati, leggere il volume dell'acqua e calcolarne il contenuto nella sostanza in millimetri per chilogrammo, usando la formula:

$$\frac{1000(n_2 - n_1)}{m}$$

n_1 = numero di millilitri di acqua ottenuti nella prima distillazione,

n_2 = numero di millilitri totali di acqua ottenuti in ambedue le distillazioni,

m = massa in grammi della sostanza.

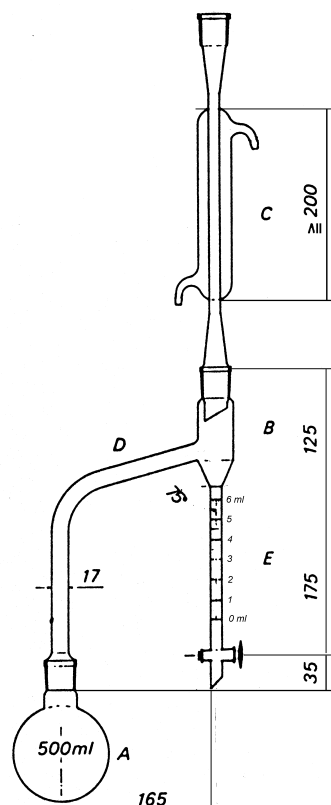


Figura 2.2.13.-1. - Apparecchio per la determinazione dell'acqua mediante distillazione
Dimensioni in millimetri

2.2.14. PUNTO DI FUSIONE - METODO AL CAPILLARE

Il punto di fusione determinato mediante il metodo al capillare è la temperatura alla quale l'ultima particella di una sostanza solida, introdotta nel tubo capillare a formare una colonna compatta, passa in fase liquida.

Quando prescritto nella monografia, lo stesso apparecchio e lo stesso metodo vengono utilizzati per la determinazione di altri fattori, quali la formazione del menisco o l'intervallo di fusione, che caratterizzano il comportamento alla fusione di una sostanza.

Apparecchio. L'apparecchio è costituito da:

- un appropriato vaso di vetro contenente un bagno liquido (ad esempio: acqua, paraffina liquida o olio di silicone) e connesso con un adeguato dispositivo di riscaldamento,
- un dispositivo meccanico di agitazione adatto ad assicurare una uniformità della temperatura del bagno,
- un appropriato termometro graduato con intervalli non superiori a 0,5 °C, e avente un segno di immersione. L'intervallo di temperatura del termometro non è superiore a 100 °C,
- tubi capillari in vetro duro, esenti da alcali, chiusi ad una estremità, con pareti da 0,10 mm a 0,15 mm di spessore e aventi un diametro interno compreso tra 0,9 e 1,1 mm.

Metodo. Se non diversamente prescritto essiccare la sostanza, finemente polverizzata, *in vacuo* e su *gel di silice anidro R* per 24 h. Introdurre in un tubo capillare una quantità sufficiente di sostanza in modo da formare una colonna compatta di 4-6 mm in altezza. Innalzare la temperatura del bagno a circa 10 °C al di sotto del punto di fusione presunto. Quindi regolare il riscaldamento dell'apparecchio a circa 1 °C al minuto. Quando la temperatura è di circa 5 °C inferiore al punto di fusione presunto, introdurre correttamente il tubo capillare nello strumento. Nel caso del dispositivo descritto sopra, sistemare il tubo capillare in modo che l'estremità inferiore chiusa si trovi a metà altezza del bulbo del termometro il cui segno di immersione è a livello della superficie del liquido. Leggere la temperatura alla quale l'ultima particella passa in fase liquida.

Taratura dell'apparecchio. L'apparecchio può essere tarato utilizzando sostanze di riferimento per il punto di fusione, quali quelle dell'Organizzazione Mondiale della Sanità o altre appropriate sostanze.

2.2.15. PUNTO DI FUSIONE - METODO AL CAPILLARE APERTO

Per alcune sostanze il punto di liquefazione, chiamato comunemente punto di fusione, viene determinato con il metodo seguente.

Utilizzare tubi capillari di vetro aperti alle due estremità, di 80 mm di lunghezza, aventi un diametro esterno di 1,4 - 1,5 mm e un diametro interno di 1,0 - 1,2 mm.

Introdurre in ciascuno di cinque capillari una sufficiente quantità di sostanza, precedentemente trattata come descritto, in modo da formare in ciascun capillare una colonna di circa 10 mm in altezza; lasciare i capillari a riposo per un tempo appropriato e alla temperatura prescritta.

Fissare uno dei capillari ad un termometro graduato a 0,2 °C in modo tale che la sostanza si trovi vicino al bulbo del termometro. Introdurre il termometro con il capillare in un recipiente in modo che la distanza tra il fondo dello stesso e l'estremità inferiore del bulbo del termometro sia di 1 cm. Riempire il recipiente con acqua fino ad un'altezza di 5 cm e innalzare la temperatura dell'acqua alla velocità di 1 °C al minuto.

La temperatura alla quale la sostanza comincia ad innalzarsi nel tubo capillare è considerata come punto di fusione.

Ripetere l'operazione con gli altri quattro tubi capillari e calcolare il risultato come media delle cinque letture.

2.2.16. PUNTO DI FUSIONE - METODO DELLA FUSIONE ISTANTANEA

Il punto di fusione ottenuto con il metodo della fusione istantanea si calcola usando l'espressione:

$$\frac{t_1 + t_2}{2}$$

dove t_1 è la prima temperatura e t_2 la seconda temperatura lette nelle condizioni sotto riportate.

Apparecchio. È costituito da un blocco di metallo inattaccabile dalle sostanze in esame, buon conduttore di calore come l'ottone, con la superficie superiore piana ed accuratamente pulita. Il blocco è riscaldato uniformemente in tutta la sua massa per mezzo di un dispositivo a gas o elettrico con regolatore di precisione. Il blocco ha una cavità cilindrica del diametro sufficiente per contenere un termometro che deve essere mantenuto nella stessa posizione durante la taratura dell'apparecchio e la determinazione del punto di fusione della sostanza in esame. La cavità cilindrica è parallela alla faccia superiore levigata del blocco ed è

distante da essa circa 3 mm. L'apparecchio si tara con sostanze di riferimento appropriate aventi punto di fusione noto.

Metodo. Riscaldare rapidamente il blocco fino a circa 10 °C al di sotto della temperatura di fusione presunta, quindi regolare la velocità del riscaldamento a circa 1 °C al minuto. Ad intervalli regolari far cadere regolarmente sul blocco, in vicinanza del bulbo del termometro, alcune particelle della sostanza in esame polverizzata ed eventualmente essiccata secondo le indicazioni riportate nel metodo per il tubo capillare; pulire la superficie dopo ogni prova. Annotare la temperatura t_1 alla quale per la prima volta la sostanza fonde istantaneamente appena tocca la superficie del metallo. Interrompere il riscaldamento. Durante il raffreddamento far cadere delle particelle della sostanza ad intervalli regolari sul blocco; pulire la superficie dopo ogni prova. Leggere la temperatura t_2 alla quale la sostanza cessa di fondere istantaneamente quando viene in contatto con il metallo.

Taratura dell'apparecchio. L'apparecchio può essere tarato usando sostanze di riferimento per il punto di fusione, quali quelle dell'Organizzazione Mondiale della Sanità o altre sostanze appropriate.

2.2.17. PUNTO DI GOCCIOLAMENTO

Il punto di gocciolamento è la temperatura alla quale la prima goccia della sostanza in esame in via di fusione cade da un adatto contenitore, in condizioni definite.

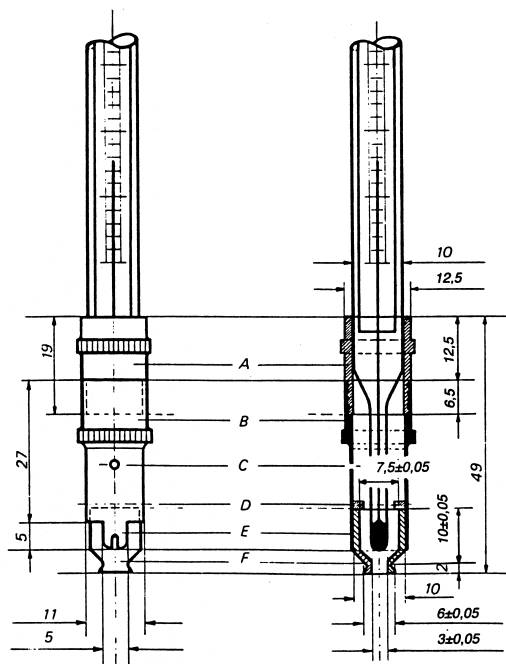


Figura 2.2.17-1. - Apparecchio per la determinazione del punto di gocciolamento - Dimensioni in millimetri

METODO A

Apparecchio. L'apparecchio (vedi Figura 2.2.17.-1) è formato da due ghiera metalliche (A) e (B) avvitate tra loro. La ghiera (A) è fissata ad un termometro a mercurio. Una capsula metallica (F) è fissata solidamente alla parte inferiore della ghiera (B) per mezzo di due placche di fissaggio (E). Dei supporti fissi (D), di 2 mm di lunghezza, determinano l'esatta posizione della capsula e servono inoltre per centrare il termometro. Un foro (C), praticato nella parete della ghiera (B), permette di equilibrare la pressione. La superficie di gocciolamento della capsula deve essere levigata ed i bordi del foro di uscita devono essere ad angolo retto. La parte inferiore del termometro a mercurio ha la forma e le dimensioni indicate nella figura; il termometro permette misure di temperatura da 0 °C a 110 °C e, sulla sua scala, una distanza di 1 mm rappresenta una differenza di 1 °C.

Il bulbo di mercurio del termometro ha un diametro di $3,5 \pm 0,2$ mm ed una altezza di $6,0 \pm 0,3$ mm. L'apparecchio descritto è posto nell'asse di una provetta di circa 200 mm di lunghezza e con un diametro esterno di circa 40 mm ed è fissato a questa per mezzo di un tappo fornito di una scanalatura laterale attraverso la quale passa il termometro. Il foro d'uscita della capsula è posto a circa 15 mm dal fondo della provetta.

Il tutto è immerso in un bicchiere cilindrico, da circa 1 litro, riempito con acqua. Il fondo della provetta è posto a circa 25 mm dal fondo del bicchiere. Il livello dell'acqua raggiunge la parte superiore della ghiera (A). Un agitatore assicura l'uniformità della temperatura dell'acqua.

Metodo. Preparare la sostanza da esaminare secondo le prescrizioni della monografia. Riempire completamente la capsula con la sostanza in esame. Eliminare con una spatola l'eccesso di sostanza alle due estremità della capsula. Dopo aver avvitato le ghiera (A) e (B), spingere la capsula nel suo alloggiamento nella ghiera (B) fino a toccare i supporti. Eliminare con una spatola quella parte di sostanza che è stata spinta dal termometro all'esterno della capsula. Porre l'apparecchio nel bagno d'acqua rispettando le posizioni sopra descritte. Scaldare il bagno ad acqua e quando la temperatura è a circa 10 °C sotto il punto di gocciolamento previsto, regolare la velocità di riscaldamento a circa 1 °C al minuto.

Determinare la temperatura al momento della caduta della prima goccia. Effettuare almeno tre determinazioni, ogni volta con un nuovo campione della sostanza. Lo scarto tra le letture non deve essere superiore a 3 °C. Il punto di gocciolamento è dato dalla media delle tre letture.

METODO B - METODO AUTOMATICO

Apparecchio. L'apparecchio (vedi Figura 2.2.17.-2) è formato da una cartuccia costituita da un porta campione nel quale la capsula contenente il campione è liberamente fissata e da un manicotto collettore munito di una fessura luminosa orizzontale fissato sotto la capsula. L'insieme è collocato in un blocco riscaldante. Il blocco è un cilindro metallico con un orificio cilindrico lungo il suo asse verticale nel quale viene collocata la cartuccia. Una sonda per la temperatura è collocata in un altro orificio cilindrico più adatto posizionato a livello della capsula del campione. Il blocco riscaldante è circondato da un sistema di riscaldamento elettrico. Sotto il blocco riscaldante è montata una lampada in modo da permettere il passaggio di un fascio di luce attraverso la fessura nel manicotto collettore e quindi su un fotosensore adeguatamente montato. Il blocco riscaldante può essere mantenuto, dall'elemento riscaldante, ad una precisa e predefinita temperatura o può essere riscaldato ad una lenta e costante predefinita velocità dopo un periodo iniziale isotermico.

Metodo. Fondere la sostanza in esame ed introdurla nella capsula secondo le prescrizioni della monografia. Procedere poi come indicato di seguito o secondo le istruzioni del fabbricante. Eliminare con una spatola l'eccesso di sostanza alle due estremità della capsula. Prima di effettuare la misura, applicare le specifiche di condizionamento del campione (temperatura e durata) prescritte nella monografia. Introdurre la capsula nel porta-campione e fissare il manicotto collettore sopra le capsule. Collocare la cartuccia così assemblata nel blocco riscaldante. Predisporre lo strumento per le condizioni isoterme iniziali e regolare la velocità per il susseguente riscaldamento come descritto nella monografia della sostanza da esaminare. Iniziare il programma di temperatura. Quando la prima goccia del campione fuso cade attraverso il foro situato sul fondo della capsula, interrompendo il fascio di luce, il segnale del fotosensore provoca la registrazione automatica della temperatura del blocco riscaldante.

Calibrazione. Usare lo strumento secondo le istruzioni del costruttore ed effettuare le prescritte operazioni di calibrazione e i saggi di idoneità del sistema a intervalli regolari, secondo l'uso dello strumento e le sostanze da analizzare. Come materiali di riferimento certificati sono generalmente utilizzati l'acido benzoico e il benzofenone. Possono essere utilizzati altri materiali a condizione che non presentino polimorfismo. Procedere come indicato di seguito o secondo le istruzioni del fabbricante. Preparare 3 capsule di campionamento per ciascuno dei 2 materiali di riferimento certificati. Collocare le capsule su di una superficie pulita. Introdurre

una piccola quantità di campione in ciascuna capsula e pressare con l'aiuto di una bacchetta del diametro di circa 4,5 mm. Verificare che l'apertura sia riempita completamente. Riempire la capsula del campione per circa la metà e compattare il campione con una bacchetta del diametro di circa 9 mm. Riempire completamente la capsula del campione e compattare, aggiungere altro campione e compattare di nuovo se necessario fino al completo riempimento della capsula.

Programma di temperatura per l'acido benzoico: temperatura di partenza = 118,0 °C, velocità di riscaldamento = 0,2 °C/min.; temperatura finale = 126,0 °C. Dopo aver inserito la capsula a 118 °C, è programmato un tempo di attesa di 30 s prima di iniziare il riscaldamento.

Programma di temperatura per il benzofenone: temperatura di partenza = 44 °C; velocità di riscaldamento = 0,2 °C/min; temperatura finale = 56 °C. Dopo l'inserimento della capsula a 44 °C, è programmato un tempo di attesa di 30 s, prima di iniziare il riscaldamento.

Verificare i 3 singoli risultati: il saggio è valido se i tre risultati sono entro i 0,3 °C del valore medio.

Calcolare la temperatura media corretta T_2 usando la seguente espressione

$$T_1 - F$$

T_1 = temperatura media del punto di gocciolamento dei 3 campioni, in °C,

F = compensazione della differenza di temperatura tra il campione e il punto nel blocco riscaldante dove la temperatura viene misurata; questo valore varia secondo il modello dello strumento di misura del punto di gocciolamento automatico ed è fornito dal fabbricante

Considerando il punto di gocciolamento (T_0) del materiale di riferimento certificato, l'accuratezza della scala di temperatura è soddisfacente se $|T_2 - T_0|$ non è superiore a 0,3 °C.

2.2.18. PUNTO DI SOLIDIFICAZIONE

Il punto di solidificazione è la temperatura massima osservabile durante la solidificazione di un liquido sopraraffreddato.

Apparecchio. L'apparecchio (vedi Figura 2.2.18.-1) è costituito da una provetta di circa 150 mm di lunghezza e 25 mm di diametro posta nell'interno di un'altra provetta di circa 160 mm di lunghezza e 40 mm di

diametro. La provetta interna è chiusa con un tappo munito di termometro di circa 175 mm di lunghezza, graduato a $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e fissato in modo che il bulbo si trovi a circa 15 mm dal fondo della provetta. Il tappo ha un foro che permette l'introduzione del gambo di un agitatore costituito da una bacchetta di vetro o di altro materiale adatto, di cui una delle estremità forma un anello di circa 18 mm di diametro perpendicolare alla bacchetta. La provetta interna e la sua camicia sono mantenute al centro di un contenitore cilindrico da 1 litro contenente un adatto liquido refrigerante che riempie il recipiente fino a 20 mm dall'orlo. Un termometro è mantenuto nel bagno refrigerante.

Metodo. Porre nella provetta una quantità sufficiente della sostanza in esame, liquida o precedentemente fusa, in modo che essa ricopra interamente il bulbo del termometro e determinare il punto di solidificazione approssimato con un rapido raffreddamento. Porre la provetta interna in un bagno la cui temperatura è di circa $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ superiore al punto di solidificazione approssimato e mantenere fino alla quasi totale fusione dei cristalli. Riempire il contenitore cilindrico di acqua o di una soluzione satura di sodio cloruro ad una temperatura di circa $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ inferiore al punto di solidificazione previsto. Inserire la provetta interna nella provetta esterna, assicurandosi della presenza di alcuni germi cristallini ed agitare vigorosamente fino alla solidificazione. Annotare la temperatura più alta osservata nel corso della solidificazione.

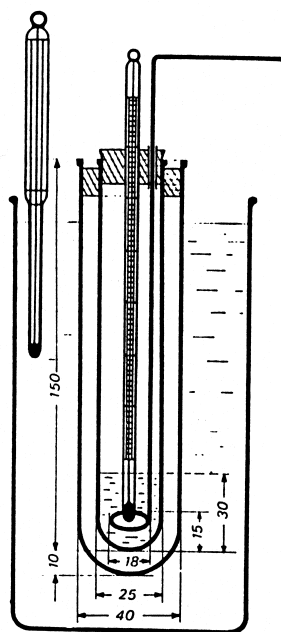


Figura 2.2.18.-1. - *Apparecchio per la determinazione del punto di solidificazione - Dimensioni in millimetri*

2.2.19. TITOLAZIONE AMPEROMETRICA

Nella titolazione amperometrica il punto di fine titolazione si determina seguendo la variazione dell'intensità di corrente misurata tra due elettrodi (un elettrodo indicatore e uno di riferimento, oppure due elettrodi indicatori) immersi nella soluzione in esame e mantenuti ad una differenza di potenziale costante, in funzione della quantità di titolante aggiunta.

Il potenziale dell'elettrodo indicatore è sufficiente ad assicurare una corrente di diffusione per la sostanza elettroattiva.

Apparecchio. L'apparecchio è costituito da una sorgente di corrente a voltaggio regolabile e un microamperometro ad alta sensibilità; il sistema di misura è costituito di solito da un elettrodo indicatore (per esempio un elettrodo di platino, o un elettrodo a goccia di mercurio, o un elettrodo a disco rotante o un elettrodo di carbone) e da un elettrodo di riferimento (per esempio un elettrodo a calomelano o un elettrodo ad argento-cloruro di argento).

Talvolta si usa un apparecchio a tre elettrodi: un elettrodo indicatore, un elettrodo di riferimento e un elettrodo ausiliario polarizzato.

Metodo. Aggiustare il potenziale dell'elettrodo indicatore al valore prescritto e riportare in un grafico l'intensità di corrente iniziale ed i valori ottenuti durante la titolazione in funzione della quantità di titolante aggiunto. Aggiungere il titolante in non meno di tre porzioni successive per un totale di circa l'80 per cento del volume teorico corrispondente al punto di equivalenza presunto. I tre valori devono trovarsi su una linea retta. Continuare ad aggiungere il titolante oltre il punto di equivalenza presunto in non meno di tre porzioni successive. I valori ottenuti devono trovarsi su una linea retta. Il punto di intersezione delle due rette rappresenta il punto di fine titolazione.

Nella titolazione amperometrica con due elettrodi indicatori l'intera curva di titolazione riportata sul grafico è usata per determinare il punto di fine titolazione.

2.2.20. TITOLAZIONE POTENZIOMETRICA

Nella titolazione potenziometrica il punto di fine titolazione è determinato seguendo la variazione della differenza di potenziale tra due elettrodi (un elettrodo indicatore e uno di riferimento oppure due elettrodi indicatori), immersi nella soluzione in esame, in fun-

zione della quantità di titolante aggiunta. La differenza di potenziale si misura a intensità di corrente nulla o praticamente nulla.

Apparecchio. L'apparecchio usato (un normale potenziometro o un dispositivo elettronico) comprende un voltmetro che permette letture al millivolt.

L'elettrodo indicatore da usare dipende dalla sostanza in esame e può essere un elettrodo a vetro o di metallo (per esempio platino, oro, argento o mercurio). L'elettrodo di riferimento è generalmente un elettrodo a calomelano o un elettrodo ad argento-cloruro d'argento.

Per titolazioni acido-base, se non è diversamente prescritto, si usa una coppia di elettrodi vetro/calomelano o vetro/argento-cloruro d'argento.

Metodo. Se necessario, prima di disciogliere la sostanza in esame, neutralizzare la miscela di solventi. Riportare in un grafico le variazioni della differenza di potenziale in funzione della quantità di titolante aggiunto, continuando l'aggiunta oltre il punto di equivalenza presunto. Il punto di fine titolazione corrisponde ad una brusca variazione della differenza di potenziale.

2.2.21. FLUORIMETRIA

La fluorimetria è un metodo che si basa sulla misura dell'intensità della luce fluorescente emessa dalla sostanza in esame rispetto a quella emessa da un campione di riferimento.

Metodo. Disciogliere la sostanza in esame in un solvente o in una miscela di solventi come riportato nella monografia; trasferire la soluzione nella cella o nel tubo di un fluorimetro ed illuminarla con un fascio di luce eccitatrice di lunghezza d'onda corrispondente a quella indicata in monografia e il più possibile monocromatica.

Misurare l'intensità della luce emessa ad un angolo di 90° rispetto alla direzione della luce eccitatrice dopo averla filtrata attraverso un filtro che lasci passare in modo predominante la radiazione fluorescente. Possono essere usati altri tipi di apparecchi purché forniscano risultati identici.

Per misure quantitative mettere nel fluorimetro prima il solvente o la miscela di solventi impiegati per sciogliere la sostanza e regolare lo strumento sullo zero; mettere poi la soluzione di riferimento e regolare la sensibilità dello strumento in modo da leggere un valore superiore a 50. Se la seconda regolazione è stata fatta aggristando la larghezza della fenditura, ripetere l'azzeramento e la misura dell'intensità della fluorescenza della

soluzione di riferimento. Infine introdurre nell'apparecchio la soluzione a concentrazione ignota e leggere il corrispondente valore sull'apparecchio. Calcolare la concentrazione c_x della sostanza nella soluzione in esame mediante la formula:

$$c_x = \frac{I_x c_s}{I_s}$$

c_x = concentrazione della soluzione in esame,

c_s = concentrazione della soluzione di riferimento,

I_x = intensità della luce emessa dalla soluzione in esame,

I_s = intensità della luce emessa dalla soluzione di riferimento.

Se l'intensità della fluorescenza emessa non è direttamente proporzionale alla concentrazione, la misura può essere effettuata usando una curva di taratura. In alcuni casi le misure possono essere fatte utilizzando un campione di riferimento fisso (per es. un vetro fluorescente o una soluzione di una sostanza fluorescente diversa); in tali casi la concentrazione della sostanza in esame deve essere determinata usando una curva di taratura precedentemente ricavata nelle stesse condizioni.

2.2.22. SPETTROMETRIA DI EMISSIONE ATOMICA

PRINCIPI GENERALI

L'emissione di radiazioni elettromagnetiche da parte di atomi o ioni eccitati ha luogo quando un campione viene riscaldato a una temperatura sufficientemente alta da causare non solo la dissociazione in atomi, ma anche un numero significativo di collisioni in grado di eccitare e ionizzare gli stessi. Una volta che gli atomi e gli ioni sono in uno stato eccitato, possono decadere a stati energetici più bassi tramite transizioni energetiche termiche o radiative con conseguente emissione di radiazioni elettromagnetiche. Uno spettro di emissione di un elemento contiene più righe del corrispondente spettro di assorbimento.

Mediante la spettrometria di emissione atomica si può determinare la concentrazione di un elemento in un campione misurando l'intensità di una delle righe di emissione del vapore atomico dell'elemento generato dal campione. La determinazione viene effettuata alla lunghezza d'onda corrispondente alla riga di emissione.

In questo capitolo viene trattata solo l'atomizzazione in fiamma. Il metodo della spettrometria di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente (SEA - ICP) è descritto in un altro capitolo generale.

APPARECCHIATURA

Consiste essenzialmente di:

- un sistema di introduzione e nebulizzazione del campione;
- una fiamma per generare gli atomi da determinare;
- un monocromatore;
- un rivelatore;
- un sistema di acquisizione dati.

Per produrre la fiamma si possono usare ossigeno, aria ed un gas combustibile quale idrogeno, acetilene, propano o butano. La sorgente di atomizzazione è critica, in quanto deve fornire sufficiente energia per eccitare e atomizzare gli atomi. Gli spettri atomici emessi dalla fiamma hanno il vantaggio di essere più semplici di quelli emessi da altre sorgenti; il principale limite consiste nel fatto che la fiamma non è sufficientemente potente da causare emissione da parte di molti elementi così da permetterne contemporaneamente la determinazione.

L'acqua acidificata è il solvente più comunemente usato per preparare la soluzione campione e quella di riferimento, sebbene si possano usare a volte solventi organici, a patto che i solventi non interferiscano con la stabilità della fiamma.

INTERFERENZE

L'interferenza spettrale può essere ridotta o eliminata scegliendo un'adatta riga di emissione o regolando la fenditura per la larghezza della banda spettrale. L'interferenza fisica può essere corretta diluendo la soluzione del campione, confrontando con matrici simili o usando il metodo dell'incremento standard. L'interferenza chimica può essere ridotta usando modificatori chimici o tamponi ionizzanti.

EFFETTO MEMORIA

L'effetto memoria è causato da depositi di analita nella strumentazione e può essere limitato da accurati lavaggi durante le analisi, diluendo le soluzioni da analizzare, se possibile, e quindi riducendo il loro contenuto di sale e aspirando le soluzioni il più rapidamente possibile.

METODO

Si raccomanda l'uso di attrezzature in plastica quando possibile.

Lo spettrometro va usato seguendo le istruzioni del fabbricante alla lunghezza d'onda prescritta. Le condizioni sperimentali (temperatura della fiamma, regolazione del fornello, tampone, concentrazione delle soluzioni) vanno ottimizzate per lo specifico elemento che si sta analizzando, tenendo conto della natura della

matrice. Va utilizzato un bianco per azzerare lo strumento. La sensibilità di lettura dello strumento va regolata sulla soluzione di riferimento più concentrata.

È preferibile usare concentrazioni che cadono nella parte lineare della curva di taratura; qualora ciò non fosse possibile, si può usare la parte non lineare della curva di taratura a patto di usare un appropriato metodo di calcolo.

I dosaggi vanno effettuati in confronto con soluzioni di riferimento a concentrazioni note dell'elemento che si sta determinando sia quando viene usato il metodo della calibrazione diretta (Metodo I) che il metodo dell'incremento standard (Metodo II).

Metodo I — Metodo della calibrazione diretta.

Normalmente vengono preparate tre soluzioni di riferimento dell'elemento in esame e un bianco.

La soluzione della sostanza in esame va preparata come descritto nella monografia. Bisogna preparare non meno di tre soluzioni di riferimento dell'elemento, a concentrazioni tali che la soluzione in esame cada all'interno delle concentrazioni delle soluzioni di riferimento. Nel caso di dosaggi, gli estremi della curva di taratura devono essere compresi nell'intervallo di concentrazione 0,7-1,3 volte la quantità presunta dell'elemento che si sta dosando oppure bisogna attenersi al limite prescritto nella monografia. Nel caso si debba determinare la purezza di un elemento, i limiti della curva di taratura sono compresi tra il limite di rivelabilità e 1,2 volte il limite specificato per l'elemento. Tutti i reattivi utilizzati nella preparazione della soluzione in esame vengono aggiunti, nella stessa concentrazione, alle soluzioni di riferimento ed alla soluzione del bianco.

Introdurre ogni soluzione nello strumento di analisi lo stesso numero di volte e leggere ogni volta il valore ottenuto dopo stabilizzazione.

Calcoli. Costruire una curva di taratura utilizzando le medie delle letture ottenute con le soluzioni di riferimento e determinare la concentrazione dell'elemento nella soluzione in esame per mezzo della curva di taratura così ottenuta.

Metodo II - Metodo dell'incremento standard.

Introdurre in almeno tre palloni tarati identici volumi uguali della soluzione della sostanza in esame, preparata come prescritto. Aggiungere a tutti i palloni, tranne uno, volumi crescenti di una soluzione di riferimento, di concentrazione nota dell'elemento da determinare, in modo da ottenere una serie di soluzioni contenenti quantità progressivamente crescenti dell'elemento stesso e scelte in modo da ottenere delle risposte situate nella parte lineare della curva di taratura. Portare quindi il contenuto di ciascun pallone a volume con il solvente.

Introdurre ciascuna delle soluzioni nel dispositivo d'analisi per almeno tre volte e leggere ogni volta il valore ottenuto dopo stabilizzazione.

Calcoli. Calcolare l'equazione lineare del grafico mediante il metodo dei minimi quadrati e risolverla in modo da ottenere la concentrazione dell'elemento da determinare nella soluzione in esame.

CONVALIDA DEL METODO

La verifica periodica dei metodi descritti nelle monografie deve essere effettuata ad opportuni intervalli di tempo con risultati soddisfacenti.

LINEARITÀ

Preparare e analizzare almeno 4 soluzioni di riferimento nell'intervallo della curva di taratura ed un bianco. Effettuare almeno 5 misure di ogni soluzione.

La curva di taratura viene calcolata mediante il metodo dei minimi quadrati dai dati misurati. La curva di regressione, le medie, i dati misurati e l'intervallo fiduciale della curva di taratura vengono riportati in grafico.

Il metodo è valido quando:

- il coefficiente di correlazione è superiore o uguale a 0,99,
- gli scostamenti di ogni livello di taratura sono casualmente distribuiti intorno alla curva di taratura.

Il valore medio e la deviazione relativa standard vengono calcolati per il più alto e il più basso livello di taratura.

Nel caso in cui il rapporto tra la deviazione standard stimata per il livello più basso e più alto della curva di taratura è inferiore a 0,5 o superiore a 2,0, è possibile ottenere una stima più precisa della curva di taratura usando il metodo della regressione lineare ponderata. Ambedue le funzioni, lineare e quadratica ponderata, vengono applicate ai dati sperimentali per trovare la funzione ponderata che dia i migliori risultati. Se le medie confrontate con la curva di taratura presentano una deviazione dalla linearità, viene utilizzata una regressione lineare bidimensionale.

ACCURATEZZA

L'accuratezza va verificata usando, se possibile, materiale di riferimento certificato (MRC). Nel caso in cui ciò non sia possibile, effettuare un saggio di recupero.

Recupero. Nel caso di dosaggi, è necessario ottenere un recupero compreso tra il 90 e il 110 per cento. Per altre determinazioni, per esempio per determinazioni di elementi in tracce, il saggio non è valido se il recupero cade al di fuori dell'intervallo 80-120 per cento del valore teorico. Il recupero può essere calcolato mediante adatte soluzioni di riferimento addizionate di quantità note di analita in concentrazioni a metà della curva di taratura.

RIPETIBILITÀ

La ripetibilità non è superiore al 3 per cento per un saggio e al 5 per cento per la determinazione di un'impurezza.

LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

Accertarsi che il limite di quantificazione (per esempio, determinato usando il metodo del 10σ) è al di sotto del valore da misurare.

2.2.23. SPETTROMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO

PRINCIPIO GENERALE

L'assorbimento atomico è un processo che avviene quando un atomo nello stato fondamentale assorbe una radiazione elettromagnetica di una specifica lunghezza d'onda e passa ad uno stato eccitato. Gli atomi allo stato fondamentale assorbono energia alla loro frequenza di risonanza e l'assorbimento si traduce in un'attenuazione della radiazione elettromagnetica. L'energia di assorbimento è funzione diretta del numero di atomi presente.

Questo capitolo fornisce un'informazione generale e definisce i procedimenti usati nella determinazione di un elemento mediante spettrometria di assorbimento atomico utilizzando per la atomizzazione diverse tecniche (fiamma, vaporizzazione elettrotermica in fornello di grafite, generazione di idruri, tecnica dei vapori freddi usata per il mercurio).

La spettrometria di assorbimento atomico è un metodo per determinare la concentrazione di un elemento in un campione misurando l'assorbimento di una radiazione da parte del vapore atomico dell'elemento generato dal campione. La determinazione si effettua alla lunghezza d'onda di una delle righe spettrali dell'elemento in questione. La quantità di radiazione assorbita è, in accordo con la legge di Lambert-Beer, proporzionale alla concentrazione dell'elemento.

APPARECCHIATURA

Consiste essenzialmente di:

- una sorgente di radiazione;
- un sistema di introduzione del campione;
- un sistema di atomizzazione del campione;
- un monocromatore o policromatore;
- un rivelatore;
- un sistema di acquisizione dati.

L'apparecchiatura è, generalmente, fornita di un sistema di correzione dell'assorbimento del fondo.

Come sorgenti di radiazioni vengono usate lampade a catodo cavo e lampade a scarica di radiofrequenza senza elettrodi. Lo spettro di emissione dell'elemento da determinare fornito da tali lampade è costituito da linee molto strette aventi una larghezza, a metà del picco, di circa 0,002 nm.

Esistono tre tipi di generatori di vapore di atomi:

- **Tecnica a fiamma**

Il generatore di atomi a fiamma consiste di un sistema di nebulizzazione formato da un accessorio di produzione pneumatica di un "aerosol", di un regolatore del flusso del gas e di un bruciatore. Per produrre temperature dell'ordine di 2000-3000 °K, vengono generalmente usate miscele di combustibili-ossidanti. Tali sostanze comprendono propano, idrogeno e acetilene; come ossidanti vengono usati aria e protossido di azoto. La configurazione del bruciatore viene adattata ai gas usati e il flusso di gas può essere regolato. I campioni vengono nebulizzati e viene usata acqua acidificata per preparare la soluzione campione e quella di riferimento. Si possono usare anche solventi organici a patto che il solvente non interferisca con la stabilità della fiamma.

- **Tecnica di atomizzazione elettrotermica**

Un generatore di atomi elettrotermico è generalmente costituito da un fornello di grafite alimentato elettricamente, all'interno del quale viene atomizzato l'intero campione, che viene poi trattenuto nel percorso ottico per un certo periodo. Ciò migliora il limite di rivelabilità. I campioni, sia liquidi che solidi, vengono introdotti direttamente nel forno riscaldato in modo progressivo e programmato allo scopo di seccare il campione e allontanare per pirolisi la maggior parte dei componenti della matrice e quindi atomizzare l'analisi. Il fornello viene ripulito alla fine scaldando ad una temperatura superiore a quella di atomizzazione. L'uso di un gas inerte durante gli stadi di pirolisi permette un processo di atomizzazione migliore.

- **Tecnica dei vapori freddi e degli idruri.**

Il vapore di atomi può anche essere generato all'esterno dello spettrometro, come ad esempio con il metodo dei vapori freddi per il mercurio e per certi elementi in grado di formare idruri quali arsenico, antimonio, bismuto, selenio e stagno. Per il mercurio, gli atomi sono generati per riduzione chimica con cloruro stannoso o sodio boroidruo e gli atomi allo stato di vapore sono trascinati da una corrente di gas inerte dentro la cella di assorbimento sistemata lungo il percorso ottico dello strumento. Gli idruri, così generati, vengono trasportati da un gas inerte dentro una cella riscaldata, nella quale vengono poi dissociati in atomi.

INTERFERENZE

Durante le misure di assorbimento atomico, si hanno vari fenomeni di interferenza, quali l'interferenza chimica, fisica, da ionizzazione ed interferenze spettrali. L'interferenza chimica può essere minimizzata aggiungendo modificatori della matrice, agenti che modificano la volatilità dell'elemento oppure usando l'alta temperatura prodotta dalla fiamma protossido d'azoto-acetilene; l'uso di specifici agenti che tamponano la ionizzazione (per esempio, lantanio e cesio) compensa l'interferenza dovuta alla ionizzazione. Le interferenze dovute ad un contenuto salino troppo elevato o ad eccessiva viscosità del campione si possono eliminare mediante diluizione del campione, col metodo delle aggiunte standard, o mediante curva di calibrazione in matrice. Le interferenze spettrali derivano da problemi di sovrapposizioni delle linee di risonanza e possono essere evitate usando una riga di risonanza differente.

Anche la correzione del fondo mediante l'effetto Zeeman compensa interferenze spettrali e interferenze dovute ad assorbimento molecolare, specialmente quando si usa la tecnica della atomizzazione elettrotermica. L'impiego di lampade multielemento a catodo cavo può anche dar luogo a interferenze spettrali. L'assorbimento specifico o non specifico si misura in un intervallo spettrale definito dalla larghezza della banda selezionata dal monocromatore (0,2-2 nm).

CORREZIONE DELL'ASSORBIMENTO DEL FONDO

La diffusione e l'assorbimento del fondo nella fiamma o nel fornello aumentano i valori di assorbanza misurata. L'assorbimento dovuto al rumore di fondo copre un ampio intervallo di lunghezze d'onda, mentre l'assorbimento atomico ha luogo in un intervallo molto stretto di lunghezze d'onda (0,005-0,02 nm). L'assorbimento dovuto al rumore di fondo può essere corretto, in linea di principio, usando un bianco avente esattamente la stessa composizione del campione ma senza l'elemento specifico da determinare; questo metodo tuttavia è spesso impraticabile. Con la tecnica di atomizzazione elettrotermica la temperatura di pirolisi deve essere ottimizzata per eliminare i prodotti di decomposizione della matrice che causano assorbimento del fondo. La correzione del rumore di fondo può anche essere fatta usando due differenti sorgenti di luce, una lampada a catodo cavo, che misura l'assorbimento totale (elemento e fondo) e una lampada a deuterio con emissione continua in grado di misurare l'assorbimento dovuto al fondo. Si corregge il rumore di fondo sottraendo il

segnale della lampada a deuterio da quello della lampada a catodo cavo. Il metodo è limitato all'intervallo spettrale della lampada a deuterio (190 – 400 nm). L'assorbimento del fondo può essere anche calcolato misurando il rumore in prossimità della linea di assorbimento e sottraendo tale valore alla misura fatta alla linea di risonanza. Un altro metodo ancora di misura del rumore di fondo si basa sull'effetto Zeeman (basata sullo sdoppiamento della riga di assorbimento in un campo magnetico). Questo fenomeno è particolarmente utile quando l'assorbimento del fondo presenta una struttura fine; in questo caso si ha un'efficiente correzione del fondo nell'intervallo spettrale di 185-900 nm.

SCelta DELLE CONDIZIONI OPERATIVE

Dopo aver scelto la lunghezza d'onda appropriata e la larghezza della fenditura per l'elemento in esame, è necessario:

- correggere l'assorbimento non specifico dovuto al fondo,
- aggiungere modificatori chimici o tamponi di ionizzazione sia alla soluzione campione che al bianco e alle soluzioni di riferimento,
- diluire il campione per minimizzare, ad esempio, le interferenze fisiche,
- regolare opportunamente il programma di temperatura, ovvero i tempi di preriscaldamento, pirolisi, essiccamento, atomizzazione, post-atomizzazione, sia come rampa che tempi di applicazione della temperatura.
- regolare opportunamente il flusso del gas inerte,
- aggiungere gli opportuni modificatori di matrice per la generazione elettrotermica di atomi (fornetto),
- aggiungere gli opportuni agenti riducenti o altri elementi in grado di formare idruri e controllare la temperatura della cella del vapore freddo o della cella di riscaldamento,
- controllare le specifiche del fornello (tubo, piattaforma di L'vov, ecc.).

METODO

È consigliabile, qualora possibile, usare attrezzature da laboratorio di plastica. La preparazione del campione può richiedere la dissoluzione, un periodo di digestione in un forno a microonde, un periodo di incenerimento o una combinazione delle due cose allo scopo di liberare il campione dalla matrice e/o allontanare residui che contengono carbonio. Se si opera in un sistema aperto, la temperatura di incenerimento non dovrebbe superare i 600 °C, a causa della volatilità di alcuni metalli; a meno di indicazioni differenti nella monografia.

Lo spettrometro di assorbimento atomico va utilizzato attenendosi alle istruzioni del produttore e operando alla lunghezza d'onda prescritta. Bisogna introdurre nel generatore di atomi una soluzione di un bianco e aggiustare il rivelatore in modo da leggere il valore massimo di trasmittanza sull'apparecchio di misura. La soluzione di riferimento va introdotta a concentrazione più alta e la sensibilità regolata in modo da ottenere un'appropriata lettura dell'assorbanza. È necessario lavare il sistema tra una lettura e l'altra per evitare contaminazioni o effetti memoria. Alla fine dell'analisi, bisogna lavare l'apparecchiatura con *acqua R* o acqua acidificata.

Se si usa la tecnica del campione solido, i dettagli completi della procedura vengono forniti nella monografia.

La concentrazione da determinare deve cadere all'interno della parte lineare della curva di taratura. Se ciò non è possibile, i grafici di taratura possono anche non essere lineari, nel qual caso si deve applicare un appropriato software di taratura.

Le misure si effettuano per confronto con soluzioni di riferimento a concentrazione nota dell'elemento da determinare utilizzando il metodo della calibrazione diretta (Metodo I) o il metodo delle aggiunte standard (Metodo II).

Metodo I. Metodo della calibrazione diretta.

Per misure di routine bisogna preparare ed analizzare tre soluzioni di riferimento e una soluzione di bianco.

Preparare come prescritto la soluzione della sostanza in esame (soluzione in esame). Preparare almeno tre soluzioni di riferimento dell'elemento che deve essere determinato le cui concentrazioni comprendono il valore previsto per la soluzione in esame. Nel caso di determinazioni quantitative la curva di taratura deve essere compresa tra 0,7 e 1,3 volte il valore atteso dell'elemento in esame o il limite prescritto nella monografia. Per determinazioni di purezza, i livelli di calibrazione sono il limite di rivelabilità ed 1,2 volte il limite specificato per l'elemento da determinare. Tutti i reattivi utilizzati nella preparazione della soluzione in esame vengono aggiunti, nella stessa concentrazione, alle soluzioni di riferimento e alla soluzione di un bianco.

Introdurre ognuna delle soluzioni nel dispositivo di analisi lo stesso numero di volte e leggere ogni volta il valore ottenuto dopo stabilizzazione.

Calcoli. Costruire una curva di taratura utilizzando le medie delle letture ottenute con le soluzioni di riferimento, graficando le medie come funzione della concentrazione. Determinare la concentrazione dell'elemento nella soluzione in esame per mezzo della curva di taratura così ottenuta.

METODO II. METODO DELL'AGGIUNTE STANDARD

Introdurre, in almeno tre palloni tarati identici, volumi eguali della sostanza in esame (soluzione in esame), preparati come prescritto. Aggiungere a tutti i palloni, tranne uno, volumi crescenti di una soluzione di riferimento, di concentrazione nota dell'elemento da determinare, in modo da ottenere una serie di soluzioni contenenti quantità progressivamente crescenti dell'elemento stesso e scelte in modo da ottenere risposte situate in una parte lineare della curva. Portare quindi a volume il contenuto di ciascun pallone con il solvente.

Introdurre ciascuna delle soluzioni nel dispositivo di analisi almeno tre volte e leggere ogni volta il valore ottenuto dopo stabilizzazione.

Calcoli. Calcolare l'equazione lineare del grafico mediante il metodo dei minimi quadrati e risolverla in modo da ottenere la concentrazione dell'elemento nella soluzione in esame.

CONVALIDA DEL METODO

Le prestazioni del metodo vanno verificate ad opportuni intervalli di tempo.

LINEARITÀ

Preparare ed analizzare non meno di quattro soluzioni di riferimento all'interno della curva di taratura e una soluzione di un bianco. Effettuare almeno cinque letture.

La curva di taratura viene calcolata mediante il metodo dei minimi quadrati dai dati misurati. Vengono riportati in grafico la curva di regressione, le medie, i dati misurati e l'intervallo di fiducia della curva di taratura. Il metodo è valido se:

- il coefficiente di correlazione è superiore o uguale a 0,99,
- i residui ottenuti per ciascuna concentrazione usata per costruire la curva di taratura sono distribuiti casualmente intorno alla curva di taratura stessa.

Calcolare la media e la deviazione standard relativa al più alto e al più basso livello della curva di taratura. Se il rapporto della deviazione standard stimata al livello più basso e a quello più alto della curva di taratura è inferiore a 0,5 o maggiore di 2,0, si può ottenere una stima della curva di taratura più precisa usando il metodo della regressione lineare ponderata. Vengono applicate ai dati ambedue le funzioni, lineare e quadratica ponderata, per trovare la funzione ponderata più adatta da usare.

ACCURATEZZA

Verificare l'accuratezza preferibilmente usando materiali di riferimento certificati (MRC). Quando ciò non fosse possibile, effettuare un saggio di recupero.

Recupero. Nel caso di determinazioni quantitative, si deve ottenere un recupero compreso tra il 90 e il 110 per cento. Nel caso di altre determinazioni, per esempio per determinazioni di elementi in tracce, il saggio non è valido se il recupero cade al di fuori dell'intervallo 80-120 per cento del valore teorico. Il recupero può essere calcolato con un'adatta soluzione di riferimento (soluzione contenente la matrice) aggiunta di quantità note di analita (una concentrazione a metà della curva di taratura).

RIPETIBILITÀ

La ripetibilità non deve essere superiore al 3 per cento nel caso di determinazioni quantitative e non superiori al 5 per cento per una determinazione di un'impurezza.

LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

Verificare che il limite di quantificazione (determinato, per esempio, col metodo del 10 σ) sia al di sotto del valore da misurare.

2.2.24. SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO NELL'INFRAROSSO

Gli spettrofotometri nell'infrarosso sono usati per registrare gli spettri nella regione compresa tra 4000 cm^{-1} e 650 cm^{-1} (2,5 μm -15,4 μm) o, in alcuni casi, fino a 200 cm^{-1} (50 μm).

APPARECCHIO

Gli spettrofotometri utilizzati per la registrazione degli spettri sono costituiti da una adeguata sorgente luminosa, un monocromatore o un interferometro ed un rivelatore. Gli spettrofotometri in trasformata di Fourier usano una radiazione policromatica e calcolano lo spettro nel dominio di frequenza a partire dai dati originali mediante la trasformata di Fourier. Possono essere anche usati spettrofotometri aventi un sistema ottico capace di produrre radiazioni monocromatiche nella regione utilizzata per la misura. Generalmente lo spettro è dato in funzione della trasmittanza, ovvero dal rapporto fra l'intensità della radiazione trasmessa e quella della radiazione incidente.

L'assorbanza (A) è definita come il logaritmo in base 10 del reciproco della trasmittanza (T):

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

$$T = I/I_0,$$

I_0 = intensità della radiazione incidente,

I = intensità della radiazione trasmessa.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Misura per trasmissione o assorbimento. Preparare la sostanza secondo uno dei metodi seguenti:

Liquidi. Esaminare un liquido sia sotto forma di un film tra due finestre trasparenti alla radiazione infrarossa o in una cella di cammino ottico adatto e ugualmente trasparente alla radiazione infrarossa.

Liquidi o solidi in soluzione. Preparare una soluzione in un adatto solvente. Scegliere la concentrazione e la lunghezza del cammino ottico in modo da avere uno spettro soddisfacente. Generalmente buoni risultati si ottengono con concentrazioni comprese fra 10 g/l e 100 g/l e con un cammino ottico compreso fra 0,5 mm e 0,1 mm. L'assorbimento dovuto al solvente è compensato ponendo nel raggio di riferimento una cella uguale contenente il solvente usato.

Se si utilizza uno strumento in trasformata di Fourier, tale assorbimento è compensato registrando, consecutivamente, gli spettri del solvente e del campione. L'assorbimento del solvente, corretta per un fattore di compensazione, viene sottratta da quella del campione con l'aiuto di un programma di calcolo.

Solidi. Esaminare i solidi dispersi in un adatto liquido (pasta) o in un solido (pasticca di alogenuro). Quando viene indicato nella monografia, utilizzare un film di sostanza fusa fra due finestre trasparenti all'infrarosso.

(a) Pasta. Triturare una piccola quantità della sostanza in esame con la minima quantità di *paraffina liquida R* o di altro liquido appropriato; 5-10 mg di sostanza in esame sono generalmente sufficienti a dare una giusta quantità di pasta utilizzando una goccia di *paraffina liquida R*. Comprimerne questa pasta fra due finestre trasparenti all'infrarosso.

(b) Pasticca. Se non è diversamente specificato, tritare 1-2 mg di sostanza in esame con 300-400 mg di *potassio bromuro R* o di *potassio cloruro R*, seccati e finemente polverizzati. Queste quantità generalmente sono sufficienti a preparare una pasticca di circa 10-15 mm di diametro e ad ottenere uno spettro di intensità adeguata. Se non è diversamente specificato, quando la sostanza è un cloridrato, si raccomanda di utilizzare *potassio cloruro R*.

Triturare con cura la miscela in un mortaio, distribuirla uniformemente in uno stampo adatto e sottoporla ad una pressione di circa 800 MPa ($8t\text{-cm}^{-2}$). Per sostanze che non sono stabili in condizioni atmosferiche normali o che sono igroscopiche, la pasticca viene

compressa sotto vuoto. Molti fattori, come una insufficiente o eccessiva triturazione, la presenza di umidità o di altre impurezze nel mezzo disperdente o una insufficiente riduzione delle dimensioni delle particelle, possono portare alla formazione di pasticche imperfette. Se non è diversamente specificato, una pasticca è scartata quando, ad occhio nudo, non si presenta perfettamente omogenea o quando la trasmittanza a circa 2000 cm^{-1} ($5\mu\text{m}$), in assenza di una specifica banda di assorbimento, è inferiore al 60 per cento senza compensazione.

Gas. Esaminare i gas in una cella trasparente alla radiazione infrarossa, con una lunghezza del cammino ottico di circa 100 mm. Fare il vuoto nella cella e riempirla, alla pressione desiderata, mediante un rubinetto, o una valvola ad ago, utilizzando una appropriata linea di trasferimento di gas tra la cella ed il contenitore della sostanza in esame. Se necessario, aggiustare la pressione nella cella alla pressione atmosferica utilizzando un gas trasparente alla radiazione infrarossa (per esempio *azoto R* e *argon R*). Per evitare le interferenze di assorbimento dovute all'acqua, all'anidride carbonica o ad altri gas atmosferici, porre, nel raggio di riferimento, se possibile, una cella identica che sia stata svuotata di qualsiasi gas o riempita con il gas trasparente alla radiazione infrarossa.

Misura per riflettanza diffusa.

Solidi. Triturare una miscela della sostanza in esame con *potassio bromuro R* o *potassio cloruro R*, finemente polverizzati e seccati. Se non è diversamente specificato, utilizzare una miscela contenente circa il 5 per cento della sostanza. Triturare la miscela, porla nel contenitore per il campione ed esaminare lo spettro di riflettanza.

Si può ottenere lo spettro del campione in assorbimento trattando matematicamente gli spettri con la funzione di Kubelka-Munk.

Misura per riflessione totale attenuata.

La riflessione totale attenuata (ATR), che include la riflessione multipla, è basata sulla riflessione interna della luce, generalmente con un certo numero di riflessioni, che avviene in un mezzo trasmittente. Comunque, esistono diversi accessori nei quali avviene una sola riflessione.

Preparare la sostanza come segue:

porre la sostanza in esame in stretto contatto con un elemento di riflessione interna (IRE) come diamante, germanio, seleniuro di zinco, tallio bromuro-tallio ioduro (KRS-5) o altro materiale adatto con alto indice di rifrazione. Assicurare un contatto intimo e uniforme tra la sostanza e l'intera superficie dell'elemento di riflessione interna, sia mediante applicazione di pressione che per dissoluzione della sostanza in un solvente

appropriato, coprendo, poi, l'IRE con la soluzione ottenuta ed evaporando a secco.

Esaminare lo spettro di riflessione totale attenuata (ATR).

IDENTIFICAZIONE MEDIANTE L'USO DI SOSTANZE DI RIFERIMENTO

Preparare la sostanza in esame e la sostanza di riferimento con lo stesso procedimento e registrare gli spettri tra 4000 cm⁻¹ e 650 cm⁻¹ (2,5-15,4 μm) nelle stesse condizioni strumentali. I minimi di trasmissione (i massimi di assorbimento) nello spettro ottenuto con la sostanza in esame corrispondono in posizione e dimensione relativa a quelli dello spettro ottenuto con la sostanza di riferimento (SCR).

Quando lo spettro registrato allo stato solido mostra delle differenze nella posizione dei minimi di trasmissione (massimi di assorbimento), trattare la sostanza in esame e la sostanza di riferimento nella stessa maniera in modo che esse cristallizzino o vengano prodotte nella stessa forma, oppure procedere come descritto nella monografia e quindi registrare gli spettri.

IDENTIFICAZIONE MEDIANTE L'USO DI SPETTRI DI RIFERIMENTO

Controllo del potere di risoluzione. Per strumenti forniti di monocromatore, registrare lo spettro di un film di polistirene avente lo spessore di circa 35 μm. La differenza *x* (vedi Figura 2.2.24.-1) tra la percentuale di trasmittanza al massimo di trasmissione *A* a 2780 cm⁻¹ (3,48 μm) e quella al minimo di trasmissione *B* a 2849,5 cm⁻¹ (3,51 μm) deve essere superiore a 18. La differenza *y* tra la percentuale di trasmittanza al massimo di trasmissione *C* a 1589 cm⁻¹ (6,29 μm) e quella al minimo di trasmissione *D* a 1583 cm⁻¹ (6,32 μm) deve essere superiore a 10.

Per strumenti in trasformata di Fourier, utilizzare una risoluzione strumentale adeguata con la appropriata apodizzazione prescritta dal fabbricante. La risoluzione è controllata con metodi adatti, per esempio mediante la registrazione dello spettro di un film di polistirene di circa 35 μm di spessore. La differenza fra le assorbanze al minimo di assorbimento a 2870 cm⁻¹ ed al massimo di assorbimento a 2849,5 cm⁻¹ è maggiore di 0,33. La differenza fra l'assorbanza al minimo di assorbimento a 1589 cm⁻¹ ed il massimo di assorbimento a 1583 cm⁻¹ è maggiore di 0,08.

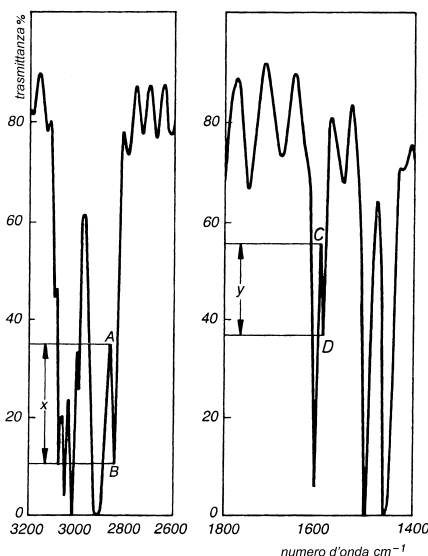


Figura 2.2.24.-1. - Spettro caratteristico del polistirene usato per il controllo del potere di risoluzione

Verifica della scala del numero d'onda. Può essere effettuata con l'aiuto di un film di polistirene che presenta minimi di trasmissione (massimi di assorbimento) ai numeri d'onda (in cm⁻¹) indicati nella Tabella 2.2.24.-1.

Tabella 2.2.24.-1 Minimi di trasmissione e tolleranze accettabili di un film di polistirene

Minimi di trasmissione (cm ⁻¹)	Tolleranza accettabile	
	Strumenti a Monocromatore	Strumenti in trasformata di Fourier
3060,0	± 1,5	± 1,0
2849,5	± 2,0	± 1,0
1942,9	± 1,5	± 1,0
1601,2	± 1,0	± 1,0
1583,0	± 1,0	± 1,0
1154,5	± 1,0	± 1,0
1028,3	± 1,0	± 1,0

Metodo. Preparare la sostanza in esame secondo le istruzioni che accompagnano lo spettro di riferimento/ sostanza di riferimento. Registrare lo spettro della sostanza in esame nelle stesse condizioni strumentali usate per ottenere lo spettro di riferimento, che, generalmente, sarà uguale a quello per la verifica del potere di risoluzione. Le posizioni e le dimensioni relative delle bande nello spettro della sostanza in esame e nello spettro di riferimento devono concordare.

Compensazione per il vapore d'acqua e l'anidride carbonica atmosferica. Per strumenti in trasformata di Fourier, le interferenze spettrali dovute al vapore d'acqua e all'anidride carbonica, vengono compensate usando adeguati

algoritmi in accordo con le istruzioni del fabbricante. Alternativamente, gli spettri possono essere acquisiti utilizzando adeguati strumenti puliti o assicurandosi che gli spettri a singolo raggio del campione e del fondo siano acquisiti esattamente nelle stesse condizioni.

IMPUREZZE NEI GAS

Per le analisi delle impurezze utilizzare una cella trasparente alla radiazione infrarossa con un adatto cammino ottico (ad es. da 1 m a 20 m), riempire la cella come descritto alla voce *Gas*. Per identificare e quantificare le impurezze procedere come descritto nella monografia.

2.2.25. SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO NELL'ULTRAVIOLETTO E NEL VISIBILE

Determinazione dell'assorbanza. L'assorbanza (A) di una soluzione è definita come il logaritmo in base 10 del reciproco della trasmittanza (T) per una luce monocromatica ed è espressa mediante l'equazione:

$$A = \log_{10} (1/T) = \log_{10} (I_0/I)$$

$$T = I/I_0,$$

I_0 = intensità della radiazione monocromatica incidente,

I = intensità della radiazione monocromatica trasmessa.

In assenza di altri fattori fisico-chimici, l'assorbanza misurata (A) è proporzionale al cammino ottico della cella (b) attraverso la quale la luce passa e alla concentrazione (c) della sostanza in soluzione secondo l'equazione:

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

ε = coefficiente di estinzione molare se b è espresso in centimetri e c in moli per litro.

L'espressione $A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cento}}$ rappresentante l'assorbanza specifica di una sostanza disciolta, si riferisce all'assorbanza di una soluzione, avente la concentrazione di 10 g/l, in una cella di 1 centimetro e misurata ad una data lunghezza d'onda tale che:

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

Se non diversamente prescritto, misurare l'assorbanza alla lunghezza d'onda indicata con un cammino ottico di 1 cm, rispetto allo stesso solvente o alla stessa miscela di solventi. L'assorbanza del solvente misurata rispetto all'aria, alla lunghezza d'onda indicata, deve essere preferibilmente inferiore a 0,2 ma comunque

non superiore a 0,4. Tracciare lo spettro di assorbimento riportando in ordinata l'assorbanza o una sua funzione ed in ascissa la lunghezza d'onda o una sua funzione.

Quando in una monografia è riportato un singolo valore per indicare la posizione di un massimo, si intende che il valore ottenuto può differire di ± 2 nm.

Apparecchio. Spettrofotometri adatti per misure nella regione ultravioletta e visibile dello spettro sono costituiti da un sistema ottico capace di fornire luce monocromatica nella regione 200-800 nm e da un dispositivo idoneo per misurare l'assorbanza.

Controllo delle lunghezze d'onda. Verificare la scala delle lunghezze d'onda usando i massimi di assorbimento dell'*olmio perclorato soluzione R*, le linee di una lampada ad idrogeno o a deuterio o le linee del vapore di mercurio, come mostrato in Tabella 2.2.25.-1. La tolleranza ammessa è di ± 1 nm per la regione ultravioletta e di ± 3 nm per la regione del visibile. Possono essere utilizzati anche adeguati materiali di riferimento certificati.

Tabella 2.2.25.-1. *Massimi di assorbimento per il controllo delle lunghezze d'onda*

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

Controllo dell'assorbanza. Controllare l'assorbanza usando una soluzione di *potassio dicromato R* alle lunghezze d'onda indicate in Tabella 2.2.25.-2 nella quale per ciascuna lunghezza d'onda sono riportati i valori esatti dell'assorbanza specifica e i limiti permessi. La tolleranza ammessa per l'assorbanza è di $\pm 0,01$.

Tabella 2.2.25.-2.

Lunghezza d'onda (nanometri)	$A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cento}}$	Limiti di tolleranza
235	124,5	122,9 - 126,2
257	144,5	142,8 - 146,2
313	48,6	47,0 - 50,3
350	107,3	105,6 - 109,0
430	15,9	15,7 - 16,1

Per il controllo dell'assorbanza usare soluzioni di *potassio dicromato R* preventivamente essiccato a massa costante a 130 °C. Per il controllo dell'assorbanza a 235 nm, 257 nm, 313 nm, e 350 nm discio-

gliere 57,0-63,0 mg di *potassio dicromato R* in *acido solforico 0,005 M* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso acido. Per il controllo dell'assorbanza a 430 nm disciogliere 57,0 - 63,0 mg di *potassio dicromato R* in *acido solforico 0,005 M* e diluire 100,0 ml con lo stesso acido.

Limite della luce diffusa. La luce diffusa può essere rivelata, ad una data lunghezza d'onda, con soluzioni o filtri appropriati; per esempio l'assorbanza di una soluzione (12 g/l) di *potassio cloruro R*, in una cella da 1 cm aumenta bruscamente tra 220 nm e 200 nm ed è maggiore di 2,0 a 198 nm quando confrontata con acqua come liquido di compensazione. Possono essere utilizzati anche adeguati materiali di riferimento certificati.

Risoluzione (per analisi qualitative). Quando prescritto in una monografia, misurare il potere risolutivo dello strumento come segue: registrare lo spettro di una soluzione di *toluene R* allo 0,02 per cento V/V in *esano R*. Il rapporto minimo tra l'assorbanza al massimo a 269 nm e l'assorbanza al minimo a 266 nm è riportato in monografia. Possono essere utilizzati anche adeguati materiali di riferimento certificati.

Larghezza della fenditura spettrale (per analisi quantitative). Per evitare errori dovuti alla larghezza della fenditura spettrale, quando si usa uno strumento la cui larghezza della fenditura è variabile alla lunghezza d'onda scelta, la larghezza della fenditura deve essere piccola in riferimento alla larghezza a metà altezza della banda di assorbimento, ma abbastanza grande per ottenere un alto valore di I_0 . Pertanto, la larghezza della fenditura deve sempre essere tale che una sua ulteriore riduzione non dia una variazione nella lettura dell'assorbanza.

Celle. La tolleranza sul cammino ottico delle celle usate è di $\pm 0,005$ cm. Riempite dello stesso solvente, le celle che conterranno la soluzione in esame ed il bianco devono avere la stessa trasmittanza. Se così non fosse, si dovrà procedere ad una appropriata correzione.

Le celle devono sempre essere pulite e maneggiate con cura.

SPETTROFOTOMETRIA IN DERIVATA

La spettrofotometria in derivata comporta la trasformazione dello spettro di assorbimento (derivata di ordine zero) in spettri in derivata di primo, secondo o più alto ordine.

Uno *spettro in derivata prima* è un grafico del gradiente della curva di assorbimento (entità del cambiamento dell'assorbanza con la lunghezza d'onda $dA/d\lambda$) rispetto alla lunghezza d'onda.

Uno *spettro in derivata seconda* è un grafico della curvatura dello spettro di assorbimento rispetto alla lun-

ghezza d'onda ($d^2A/d\lambda^2$). La derivata seconda a ogni lunghezza d'onda λ è correlata alla concentrazione mediante le equazioni seguenti:

$$\frac{d^2A}{d\lambda^2} = \frac{d^2A_{1\text{ cm}}^{\text{per cento}}}{d\lambda^2} \times \frac{c'b}{10} = \frac{d^2A\varepsilon}{d\lambda^2} \times \frac{cb}{10}$$

c' = concentrazione del soluto assorbente in grammi per litro.

Apparecchio. Usare uno spettrofotometro che soddisfa ai requisiti descritti precedentemente ed equipaggiato con un modulo di differenziazione resistenza-capacità di tipo analogico o un differenziatore digitale o di altri mezzi per ottenere spettri in derivata. Alcuni metodi per ottenere spettri in derivata seconda producono uno spostamento della lunghezza d'onda rispetto allo spettro di ordine zero e ciò deve essere preso in considerazione se è il caso.

Potere di risoluzione. Quando prescritto in una monografia, registrare lo spettro in derivata seconda di una soluzione 0,02 per cento (V/V) di *toluene R* in *metanolo R*, usando *metanolo R* come liquido di compensazione. Lo spettro presenta un piccolo estremo negativo situato tra due grandi estremi negativi rispettivamente a 261 nm e a 268 nm, come indicato nella Figura 2.2.25.-1. Se non diversamente prescritto nella monografia, il rapporto A/B (vedere Figura 2.2.25.-1) non è inferiore a 0,2.

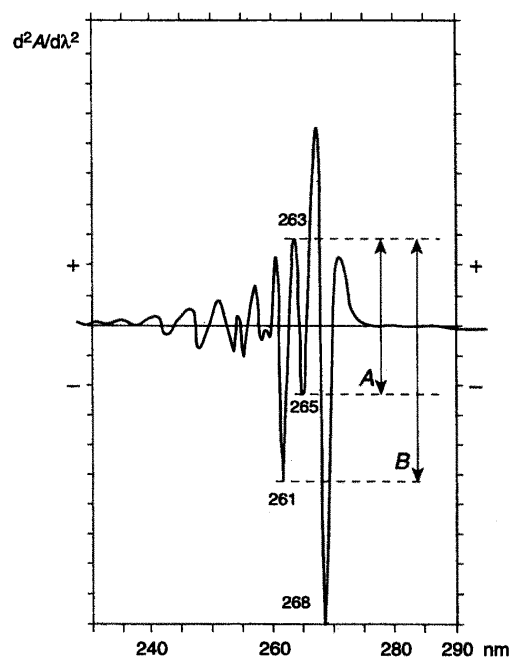


Figura 2.2.25.-1.

Procedimento. Preparare la soluzione della sostanza in esame, aggiustare lo strumento secondo le istruzioni del produttore e calcolare la quantità della sostanza da determinare come prescritto nella monografia.

2.2.26. CROMATOGRAFIA SU CARTA

CROMATOGRAFIA ASCENDENTE

Apparecchio. È costituito da una vasca cromatografica di vetro a bordo smerigliato, di dimensioni adatte a quelle del foglio di carta da utilizzare, munita di un coperchio di vetro che assicura una chiusura ermetica e provvista, nella parte superiore, di un dispositivo che consente la sospensione della carta per cromatografia e che può essere abbassato senza aprire la vasca. Sul fondo della vasca si trova una vaschetta per la fase mobile nella quale può essere immersa la carta. La carta per cromatografia è una carta da filtro adatta, tagliata in modo che la migrazione della fase mobile avvenga nel senso delle fibre della carta, in strisce di lunghezza sufficienti e di larghezza di almeno 2,5 cm.

Metodo. Porre nella vaschetta uno strato di circa 2,5 cm della fase mobile indicata nella monografia e, se questa lo prescrive, versare la fase stazionaria tra le pareti della vasca e la vaschetta. Chiudere la vasca e lasciare a riposo per 24 h a 20-25 °C e mantenere la vasca a questa temperatura per tutta la durata delle operazioni. A 3 cm da una delle estremità della carta, tracciare con la matita, una sottile linea parallela al bordo della carta. Con una micropipetta deporre, sulla linea tracciata con la matita, il volume di soluzione indicato nella monografia. Se la macchia raggiunge un diametro superiore a 10 mm, deporre la soluzione in frazioni, lasciando ogni volta essiccare il solvente prima della successiva applicazione. Se la stessa striscia di carta viene utilizzata per più di un cromatogramma, le soluzioni deposte lungo la linea a matita sono poste a 3 cm almeno di distanza l'una dall'altra. Introdurre poi la carta nella vasca, rimettere il coperchio e lasciare a riposo per 1 h e 30 min. Immergere la carta nella fase mobile e lasciare che l'eluizione proceda per la distanza ed il tempo prescritti. Rimuovere la carta dalla vasca e lasciare essiccare all'aria. Durante il periodo di eluizione, proteggere la carta dalla luce intensa.

CROMATOGRAFIA DISCENDENTE

Apparecchio. È costituito da una vasca cromatografica di vetro a bordo smerigliato, di dimensioni adatte a quelle del foglio di carta da utilizzare, munita di un coperchio di vetro che assicura una chiusura ermetica e provvisto di un orifizio centrale di circa 1,5 cm di diametro; questo orifizio è otturato da una lastra di vetro smerigliato o da un tappo. Nella parte superiore della vasca, su dei supporti, è disposta una vaschetta per la fase mobile munita di un dispositivo che permette di sostenere il foglio di carta da cromatografia. Sui due lati della vaschetta, parallelamente e leggermente al di sopra dei suoi bordi, sono fissate due bacchette di vetro destinate a servire da supporto alla carta, in modo tale

che non tocchi le pareti della vasca in nessun punto. La carta per cromatografia è una carta da filtro appropriata, tagliata in strisce, di lunghezza sufficiente e di larghezza compresa tra 2,5 cm e la lunghezza della vaschetta, in modo che la migrazione della fase mobile avvenga nel senso delle fibre della carta.

Metodo. Porre nel fondo della vasca uno strato di circa 2,5 cm del solvente indicato nella monografia; chiudere la vasca, lasciare a riposo per 24 h a 20-25 °C. Mantenere a questa temperatura per tutta la durata delle operazioni. Con la matita tracciare sul foglio di carta una sottile riga orizzontale; la distanza tra questa riga e una delle estremità della carta deve essere tale che, quando questa estremità è fissata nella vaschetta del solvente e il resto della carta ricade liberamente, la linea si trovi qualche centimetro al disotto della bacchetta-guida e parallela a questa. Con una micropipetta deporre, sulla linea tracciata con la matita, il volume di soluzione indicato nella monografia. Se il volume totale da applicare dovesse produrre una macchia di diametro superiore a 10 mm, deporre la soluzione in frazioni, lasciandole ogni volta essiccare prima della successiva applicazione. Se la stessa striscia di carta viene utilizzata per più di un cromatogramma, le soluzioni deposte lungo la linea a matita sono poste a 3 cm almeno di distanza l'una dall'altra. Introdurre la carta nella vasca, rimettere il coperchio e lasciare a riposo per 1 h e 30 min. Attraverso l'orifizio del coperchio versare poi nella apposita vaschetta la fase mobile in quantità sufficiente, richiudere e lasciare che l'eluizione proceda per la distanza e tempo prescritti. Togliere la carta dalla vasca e lasciar seccare all'aria. Durante il periodo di eluizione, la carta deve essere protetta da luce intensa.

2.2.27. CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE

Principio. La cromatografia su strato sottile è una tecnica di separazione nella quale la fase stazionaria è costituita da un materiale adeguato, steso in strato sottile ed uniforme su un supporto (lastra) di vetro, di metallo o di plastica. Le soluzioni di analiti sono depositate sulla lastra prima dell'eluizione. La separazione è basata sull'adsorbimento, la ripartizione, lo scambio ionico o una combinazione di questi meccanismi e si effettua per migrazione (eluizione) di soluti (soluzioni di analiti) in un solvente o in una miscela appropriata di solventi (fase mobile) attraverso lo strato sottile (fase stazionaria).

APPARECCHI

Lastre. La cromatografia si effettua usando lastre già ricoperte come descritto nel capitolo *Reattivi (4.1.1)*.

Precondizionamento delle lastre. Può essere necessario lavare le lastre prima della separazione. Questo può

essere fatto con la migrazione di un solvente appropriato. Le lastre possono anche essere impregnate con procedure come l'eluizione, l'immersione o la spruzzatura. Al momento dell'uso, le lastre possono essere attivate, se necessario, mediante riscaldamento in stufa a 120 °C per 20 min.

Vasca cromatografica. È una vasca con il fondo piatto, o dotata di due vaschette di materiale trasparente, inerte, di dimensioni appropriate per le lastre usate, e munita di un coperchio che assicuri una chiusura ermetica. Per l'eluizione orizzontale la vasca è provvista di una vaschetta per la fase mobile e contiene, inoltre, un dispositivo per indirizzare la fase mobile verso la fase stazionaria.

Micropipette, microsiringhe, capillari tarati monouso o altri dispositivi idonei per effettuare una corretta deposizione delle soluzioni.

Dispositivo per la rivelazione di fluorescenza, per misurare la fluorescenza diretta o l'inibizione della fluorescenza.

Dispositivi di visualizzazione e reattivi Per trasferire sulla lastra reattivi mediante spruzzatura, immersione o esposizione a vapori e, quando applicabile, per facilitare il riscaldamento atto alla visualizzazione di componenti separati, vengono usati adeguati dispositivi per derivatizzazione.

Documentazione: Per ottenere una documentazione dei cromatogrammi visualizzati può essere usato un dispositivo come ad esempio una fotografia o un "computer file".

METODO

Deposizione del campione. Deposare il prescritto volume delle soluzioni ad una adeguata distanza dal bordo inferiore e dei lati della lastra e lungo una linea parallela al bordo inferiore della lastra stessa; lasciare un intervallo di almeno 10 mm (5 mm su lastre ad alta risoluzione) tra i centri delle macchie circolari e 5 mm (2 mm su lastre ad alta risoluzione) tra i bordi delle bande. Deposare le soluzioni in porzioni sufficientemente piccole in modo da ottenere macchie circolari con diametro di 2-5 mm (1-2 mm su lastre ad alta risoluzione) o bande lunghe 10-20 mm (5-10 mm su lastre ad alta risoluzione) e larghe 1-2 mm.

Quando in una monografia viene riportata la possibilità di utilizzare sia lastre normali che ad alta risoluzione, le condizioni di lavoro per le lastre ad alta risoluzione vengono specificate tra parentesi quadre [] dopo quelle relative alle lastre normali.

Eluizione verticale. Rivestire le pareti della vasca cromatografica con carta da filtro. Versare nella vasca cromatografica una quantità di fase mobile, sufficiente alla luce delle dimensioni della vasca, in modo da ottenere, dopo saturazione della carta da filtro,

uno strato di appropriata profondità in relazione alle dimensioni della lastra da usare. Per la saturazione della vasca cromatografica ricoprirla con il coperchio e lasciare a riposo, a 20-25 °C, per 1 h. Se non diversamente indicato, la separazione cromatografica è effettuata in una vasca satura. Deposare il prescritto volume delle soluzioni come sopra descritto. Dopo che il solvente delle soluzioni deposte è evaporato, porre la lastra nella vasca cromatografica assicurandosi che sia in posizione il più possibile verticale e che le macchie, o le bande, siano sempre al di sopra del livello della fase mobile. Richiudere la vasca cromatografica e lasciarla a 20-25 °C al riparo dalla luce solare. Togliere la lastra dalla vasca quando la fase mobile ha percorso la distanza prescritta, misurata tra i punti di deposizione ed il fronte del solvente. Seccare la lastra e procedere alla rivelazione dei cromatogrammi nel modo prescritto.

Nel caso di una cromatografia bidimensionale, seccare le lastre dopo la prima eluizione ed effettuare una seconda eluizione nella direzione perpendicolare a quella della prima.

Eluizione orizzontale. Deposare il prescritto volume delle soluzioni come sopra descritto. Dopo che il solvente delle soluzioni deposte è evaporato, introdurre una quantità sufficiente di fase mobile nella vaschetta della camera cromatografica usando una siringa o una pipetta; porre orizzontalmente la lastra nella camera e collegare il dispositivo che indirizza la fase mobile secondo le istruzioni del fabbricante. Se prescritto, eluire la lastra iniziando contemporaneamente alle due estremità. Chiudere la camera e mantenerla a 20-25 °C. Togliere la lastra dalla vasca quando la fase mobile ha percorso la distanza indicata nella monografia. Seccare la lastra e procedere alla rivelazione dei cromatogrammi nel modo prescritto.

Nel caso di una cromatografia bidimensionale, seccare le lastre dopo la prima eluizione ed effettuare una seconda eluizione nella direzione perpendicolare alla prima.

VALUTAZIONE VISIVA

Identificazione. La macchia principale, nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, è confrontata visivamente con la macchia corrispondente nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento, confrontando il colore, la dimensione e il fattore di ritardo (R_f) di entrambe le macchie.

Il fattore di ritardo (R_f) è definito come il rapporto tra la distanza dal punto di applicazione al centro della macchia e la distanza percorsa, dal fronte del solvente, dal punto di applicazione.

Verifica del potere di separazione per l'identificazione. Normalmente è sufficiente la conformità al saggio di idoneità descritto nel capitolo *Reattivi (4.1.1)*. Solo in casi particolari la monografia prescrive un ulteriore criterio di verifica del potere di separazione.

Saggio delle sostanze correlate. La macchia(e) secondaria(e) nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è (sono) confrontata(e), visivamente, con le macchie corrispondenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento contenente l'impurezza(e) o con le macchie nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento preparata diluendo la soluzione in esame.

Verifica del potere di separazione. I requisiti per la verifica del potere di separazione sono descritti nella specifica monografia.

Verifica del potere di rivelazione. Il potere di rivelazione è considerato soddisfacente se la macchia, o la banda, nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento più diluita è nettamente visibile.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

I requisiti per la risoluzione e la separazione sono prescritti nella specifica monografia.

Le sostanze separate mediante cromatografia su strato sottile e che rispondono alla irradiazione UV-Visibile, possono essere determinate quantitativamente direttamente sulla lastra, usando un'appropriata strumentazione. Durante il movimento della piastra, o del dispositivo di misura, si esamina la lastra, misurando la riflettanza o la trasmittanza della luce incidente. Analogamente, può essere misurata la fluorescenza usando un appropriato sistema ottico. Le sostanze che contengono radionuclidi possono essere quantificate in tre modi: direttamente, portando la lastra presso un appropriato contatore o viceversa (vedere *Preparazioni radiofarmaceutiche (125)*), tagliando la lastra in strisce e misurando la radioattività di ciascuna striscia usando un appropriato contatore, oppure rimuovendo la fase stazionaria, disciogliendola in un'adatta miscela di scintillazione e misurando la radioattività usando un contatore a scintillazione liquida.

Apparecchio. L'apparecchio per la quantificazione diretta sulla piastra è costituito da:

- un dispositivo per la deposizione esatta e riproducibile della quantità delle sostanze sulla lastra;
- un dispositivo meccanico per muovere la lastra, o il dispositivo di quantificazione, lungo l'asse x o l'asse y;

- un registratore e un appropriato integratore o un computer;
- *per le sostanze rispondenti alla irradiazione UV-Visibile:* per misurare la riflettanza o la trasmittanza si usa un fotometro con una sorgente di luce, un dispositivo ottico in grado di generare una luce monocromatica ed una fotocellula di adeguata sensibilità; quando viene misurata la fluorescenza è richiesto un adeguato filtro che impedisca alla luce utilizzata per l'eccitazione di raggiungere il rivelatore mentre lasci passare la luce emessa o un suo specifico intervallo;
- *per le sostanze contenenti radionuclidi:* un appropriato contatore di radioattività. È necessario verificare l'intervallo di linearità del dispositivo di conteggio.

Metodo. Preparare la soluzione della sostanza in esame come prescritto nella monografia (soluzione in esame) e, se necessario, preparare le soluzioni di riferimento della sostanza da determinare usando lo stesso solvente della soluzione in esame. Depositare lo stesso volume di ciascuna soluzione sulla lastra ed eluire.

Sostanze rispondenti alla irraggiamento UV-Visibile: preparare e depositare non meno di tre soluzioni di riferimento della sostanza in esame; le cui concentrazioni comprendono il valore presunto della soluzione in esame (circa 80, 100 e 120 per cento). Trattare con il reattivo previsto, se necessario, e registrare la riflettanza, la trasmittanza o la fluorescenza nei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame e con le soluzioni di riferimento. Usare i risultati ottenuti per calcolare la quantità di sostanza nella soluzione in esame.

Sostanze contenenti radionuclidi: preparare e depositare una soluzione in esame contenente circa il 100 per cento del valore presunto. Determinare la radioattività come funzione della lunghezza del percorso e riportare la radioattività di ciascun picco risultante come percentuale della quantità totale di radioattività.

I criteri per la valutazione dell'idoneità del sistema sono descritti nel capitolo *Tecniche cromatografiche di separazione (2.2.46)*. In questo capitolo è anche riportato il grado delle correzioni dei parametri del sistema cromatografico che possono essere effettuate per soddisfare i criteri di idoneità del sistema.

2.2.28. GAS CROMATOGRAFIA

La gas cromatografia (GC) è una tecnica di separazione cromatografica basata sulla differenza nella distribuzione delle specie tra due fasi, non miscibili, nelle quali la fase mobile è un gas di trasporto che attraversa o passa sulla fase stazionaria contenuta in una colonna. Si utilizza per sostanze, o loro derivati, che possono essere volatilizzati alle temperature impiegate.

La gas cromatografia si basa su meccanismi di adsorbimento, di distribuzione di massa e di esclusione.

APPARECCHIO

L'apparecchio è costituito da un iniettore, una colonna cromatografica contenuta in un forno, un rivelatore ed un sistema di acquisizione dei dati (un integratore o un registratore a carta). Il gas di trasporto fluisce attraverso la colonna con una pressione o un flusso controllati e quindi attraverso il rivelatore.

La cromatografia si effettua a temperatura costante o secondo un prefissato programma di temperatura.

Iniettori

Se non diversamente prescritto nella monografia, generalmente si effettua l'*iniezione diretta* delle soluzioni. L'iniezione può essere effettuata sia direttamente in testa della colonna, usando una siringa o una valvola di iniezione, sia in una camera di vaporizzazione che può essere fornita di un separatore di flusso.

L'*iniezione della fase vapore* può essere eseguita utilizzando sistemi di iniezione a spazio di testa statici o dinamici.

I sistemi di iniezione a *spazio di testa dinamico* (purge and trap) sono costituiti da un dispositivo mediante il quale le sostanze volatili in soluzione sono fatte passare nella colonna adsorbente mantenuta a bassa temperatura. Le sostanze trattenute sono poi deadsorbite nella fase mobile mediante riscaldamento rapido della colonna adsorbente.

I sistemi di iniezione a *spazio di testa statico* comprendono una camera di riscaldamento del campione, controllata termostaticamente nella quale i contenitori, chiusi, contenenti i campioni solidi o liquidi sono mantenuti per un tempo prestabilito affinché i componenti volatili del campione possano raggiungere l'equilibrio tra la fase non gassosa e la fase vapore. Dopo che si è stabilito l'equilibrio una quantità prestabilita dello spazio di testa del contenitore è convogliata nel gas cromatografo.

Fasi stazionarie

Le fasi stazionarie sono contenute in colonne che possono essere:

- una colonna capillare di silice fusa la cui parete interna è rivestita con la fase stazionaria;
- una colonna impaccata con particelle inerti impregnate con la fase stazionaria;
- una colonna impaccata con una fase stazionaria solida.

Le colonne capillari hanno un diametro interno (\emptyset) di 0,1-0,53 mm ed una lunghezza di 5-60 m. La fase liquida o stazionaria, che può essere chimicamente legata alla superficie interna, è un film dello spessore di 0,1-5,0 μm .

Le colonne impaccate, di vetro o di metallo, hanno generalmente una lunghezza di 1-3 m ed un diametro interno (\emptyset) di 2-4 mm. Le fasi stazionarie sono costituite, generalmente, da polimeri porosi o supporti solidi impregnati con una fase liquida.

I supporti per l'analisi di composti polari, in colonne impaccate con una fase stazionaria a bassa capacità e a bassa polarità, devono essere inerti per evitare lo scodamento dei picchi. La reattività dei materiali di supporto può essere ridotta mediante silanizzazione prima del rivestimento con la fase liquida. Spesso si usa la terra di infusori lavata con acidi e calcinata. I materiali sono disponibili con particelle di diverse dimensioni; le dimensioni delle particelle più comunemente usate sono comprese nell'intervallo tra 150 μm e 180 μm e tra 125 μm e 150 μm .

Fase mobile

Il tempo di ritenzione e l'efficienza del picco dipendono dal flusso del gas di trasporto; il tempo di ritenzione è direttamente proporzionale alla lunghezza della colonna e la risoluzione è proporzionale alla radice quadrata della lunghezza della colonna. Per le colonne impaccate, il flusso del gas di trasporto è generalmente espresso in millilitri per minuto alla pressione atmosferica ed a temperatura ambiente. Il flusso è misurato all'uscita del rivelatore, sia con un dispositivo meccanico tarato, sia con un tubo a bolla, mentre la colonna è alla temperatura di funzionamento. Per un dato volume di flusso la velocità lineare del gas di trasporto attraverso la colonna impaccata è inversamente proporzionale alla radice quadrata del diametro interno della colonna. Un flusso di 60 ml/min, in una colonna con diametro interno di 4 mm, e di 15 ml/min, per una colonna con diametro interno di 2 mm, danno identiche velocità lineari e, quindi, tempi di ritenzione simili.

L'elio o l'azoto sono generalmente impiegati come gas di trasporto per colonne impaccate, mentre i gas di trasporto più comunemente usati per le colonne capillari sono l'azoto, l'elio e l'idrogeno.

Rivelatori

Sono generalmente usati rivelatori a ionizzazione di fiamma, ma possono essere usati altri rivelatori come: a cattura di elettroni, azoto-fosforo, a spettrometria di massa, a conduttività termica, spettrofotometro nell'infrarosso con trasformata di Fourier, o altri a seconda dello scopo dell'analisi.

METODO

Equilibrare la colonna, l'iniettore ed il rivelatore alla temperatura e al flusso di gas specificati nella monografia fino ad ottenere una linea di base stabile. Preparare

la(e) soluzione(i) in esame e la(e) soluzione(i) di riferimento come prescritto. Le soluzioni devono essere esenti da particelle solide.

I criteri per la valutazione dell'idoneità del sistema sono descritti nel capitolo *Tecniche di separazione cromatografica* (2.2.46). In questo capitolo è anche riportato il grado delle correzioni dei parametri del sistema cromatografico che possono essere effettuate per soddisfare i criteri di idoneità del sistema.

GAS CROMATOGRAFIA A SPAZIO DI TESTA STATICO

La gas cromatografia a spazio di testa è una tecnica particolarmente adatta per la separazione e la determinazione di composti volatili presenti in campioni solidi o liquidi. Il metodo si basa sull'analisi della fase vapore in equilibrio con la fase solida o liquida.

APPARECCHIO

L'apparecchio è costituito da un gas cromatografo provvisto di un dispositivo per introdurre il campione che può essere collegato ad un modulo che, automaticamente, controlla la pressione e la temperatura. Se necessario, può essere aggiunto un dispositivo per eliminare i solventi.

Introdurre il campione in esame in un contenitore provvisto di una chiusura idonea e di un sistema a valvola che permette il passaggio del gas di trasporto. Il contenitore è posto in una camera termostaticamente controllata ad una temperatura definita per il campione in esame.

Mantenere il campione a questa temperatura fino al raggiungimento dell'equilibrio tra la fase solida o liquida e la fase vapore.

Introdurre il gas di trasporto nel contenitore e, dopo il tempo prescritto, aprire una valvola appropriata in modo che il gas si espanda verso la colonna cromatografica, trascinandosi con sé i composti volatili.

Per l'introduzione dei campioni, anziché un cromatografo specificamente equipaggiato, si possono utilizzare anche siringhe a tenuta d'aria e un cromatografo convenzionale. L'equilibrio si realizza in una camera separata e la fase vapore viene trasferita nella colonna prendendo tutte le precauzioni necessarie ad evitare qualsiasi cambiamento nell'equilibrio.

METODO

Usando le preparazioni di riferimento, determinare i parametri strumentali appropriati per ottenere una risposta adeguata.

Taratura diretta

Introdurre separatamente, in recipienti identici, la preparazione in esame e ciascuna delle preparazioni di riferimento, come prescritto nella monografia, evitando il contatto tra il sistema di campionamento ed i campioni.

Chiudere ermeticamente i recipienti e porli in una camera, controllata termostaticamente, alla temperatura e pressione prescritte nella monografia; dopo l'equilibratura effettuare la cromatografia nelle condizioni prescritte.

Aggiunte standard

Introdurre in una serie di recipienti idonei ed identici, quantità uguali della preparazione in esame. A tutti i recipienti meno uno, aggiungere quantità appropriate di una preparazione di riferimento contenente una concentrazione nota della sostanza da determinare, in modo da ottenere una serie di preparazioni a concentrazione progressivamente crescente della sostanza.

Chiudere ermeticamente i recipienti e porli in una camera controllata termostaticamente, alla temperatura e pressione prescritte nella monografia; raggiunto l'equilibrio, effettuare la cromatografia nelle condizioni prescritte.

Calcolare l'equazione lineare del grafico, mediante il metodo dei quadrati minimi e, con questa, calcolare la concentrazione della sostanza da determinare nella preparazione in esame.

Alternativamente, riportare su un grafico la media delle letture in funzione della quantità aggiunta della sostanza da determinare. Estrapolare la retta congiungente i punti nel grafico fino all'intersezione con l'asse delle concentrazioni; la distanza, tra questo punto e l'intersezione degli assi, rappresenta la concentrazione della sostanza da determinare nella preparazione in esame.

Prelievi successivi (*multiple head space extraction*)

Se prescritto, il metodo dei prelievi successivi è interamente descritto nella monografia.

2.2.29. CROMATOGRAFIA LIQUIDA

La cromatografia liquida è un metodo di separazione cromatografica basata sulla differenza di distribuzione delle specie tra due fasi non miscibili, in cui la fase mobile è un liquido che passa attraverso la fase stazionaria contenuta in una colonna.

La cromatografia liquida si basa, soprattutto, su un meccanismo di adsorbimento, di distribuzione di massa, di scambio ionico, di esclusione o di interazione stereochimica.

APPARECCHIO

L'apparecchio è costituito, generalmente, da un sistema di pompaggio, un iniettore, una colonna cromatografica (può essere usata una colonna con controllo della temperatura), un rivelatore ed un sistema di acquisizione dei dati (può essere usato un integratore o un registratore a carta). La fase mobile proviene da uno o più serbatoi e fluisce attraverso la colonna, generalmente ad una velocità costante, e passa poi attraverso il rivelatore.

Sistemi di pompaggio

Nella cromatografia liquida i sistemi di pompaggio sono necessari per rilasciare la fase mobile ad un flusso costante. Le fluttuazioni della pressione devono essere minimizzate per es. facendo passare il solvente pressurizzato attraverso un dispositivo di smorzamento di impulso. Le tubazioni e le connessioni sono in grado di resistere alla pressione sviluppata dal sistema di pompaggio. Le pompe per cromatografia liquida possono essere provviste di un dispositivo atto a liberare il sistema dalle bolle di aria intrappolata.

I sistemi controllati da microprocessori sono in grado di rilasciare una fase mobile di composizione costante (eluizione isocratica) o di composizione variabile (eluizione a gradiente) a seconda di un programma prefissato. In caso dell'eluizione a gradiente sono disponibili dei sistemi di pompaggio che rilasciano il solvente(i) proveniente(i) da recipienti diversi e la miscelazione del solvente può essere realizzata sia prima della pompa (a bassa pressione) che dopo la pompa (ad alta pressione).

Iniettori

La soluzione campione viene introdotta nel flusso della fase mobile alla sommità o vicino alla sommità della colonna usando un sistema di iniezione che può operare ad alta pressione. Si possono usare iniettori a volume fisso o dispositivi a volume variabile comandati manualmente oppure tramite un campionatore automatico. Il riempimento parziale manuale dell'iniettore può causare una minore precisione del volume di iniezione.

Fasi stazionarie

Esistono molti tipi di fasi stazionarie usate in cromatografia liquida, quali:

- silice, allumina o grafite porosa, usate in cromatografia in fase normale, dove la cromatografia è basata sulle differenze di adsorbimento e/o di distribuzione di massa,

- resine o polimeri con gruppi acidi o basici, usati in cromatografia a scambio ionico, dove la separazione è basata sulla competizione tra gli ioni che devono essere separati e quelli nella fase mobile,
- silice porosa o polimeri, usati nella cromatografia per esclusione, dove la separazione è basata sulle differenze tra i volumi delle molecole, corrispondenti all'esclusione sterica,
- diversi supporti modificati chimicamente preparati a partire da polimeri, silice o grafite porosa, usati in cromatografia liquida in fase inversa, dove la separazione si basa principalmente sulla distribuzione delle molecole tra la fase mobile e la fase stazionaria,
- fasi stazionarie particolari modificate chimicamente, per es. derivati della cellulosa o dell'amilosio, proteine o peptidi, ciclodestrine ecc., per la separazione di enantiomeri (cromatografia chirale).

La maggior parte delle separazioni si basano su meccanismi di ripartizione che utilizzano silice modificata chimicamente, come fase stazionaria, e solventi polari, come fase mobile. La superficie del supporto, per es. i gruppi silanoliche della silice, è fatta reagire con diversi reattivi sililanti per produrre silil-derivati, legati covalentemente, che ricoprono un grande numero di siti attivi sulla superficie del supporto. La natura della fase legata è un parametro importante per determinare le proprietà di separazione del sistema cromatografico.

Le fasi legate comunemente usate sono riportate di seguito:

ottil	= Si-(CH ₂) ₇ -CH ₃	C ₈
ottadecil	= Si-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	C ₁₈
fenil	= Si-(CH ₂) _n -(C ₆ H ₅)	C ₆ H ₅
cianopropil	= Si-(CH ₂) ₃ -CN	CN
amminopropil	= Si-(CH ₂) ₃ -NH ₂	NH ₂
diol	= Si-(CH ₂) ₃ -OCH(OH)-CH ₂ -OH	

Se non diversamente indicato dal fabbricante, le colonne di silice a fase inversa sono considerate stabili in fasi mobili che hanno un pH apparente compreso nell'intervallo tra 2,0 e 8,0. Le colonne contenenti grafite porosa o particelle di materiali polimerici, come il copolimero stirene-divinilbenzene, sono stabili ad intervalli di pH più ampi.

In alcuni casi è possibile effettuare una cromatografia in fase normale, con silice non modificata, grafite porosa o silice polare modificata chimicamente, per es. cianopropil o diol, come fasi stazionarie, e una fase mobile non polare.

Per le separazioni analitiche, la dimensione delle particelle delle fasi stazionarie più comunemente usate

variano tra 3 μm e 10 μm . Le particelle possono essere sferiche o irregolari, di porosità e area superficiale specifica variabili. Questi parametri contribuiscono al comportamento cromatografico di una particolare fase stazionaria. In caso di fase inversa, la natura della fase stazionaria, l'entità del legame, per es. espresso come carico di carbonio, e se la fase stazionaria subisce un trattamento finale (per es. i gruppi silanolici residui sono silanizzati) sono ulteriori fattori determinanti. La formazione di code (*tailing*) dei picchi, in particolare nel caso di sostanze basiche, può verificarsi quando sono presenti gruppi silanolici residui.

In cromatografia analitica si usano colonne di acciaio inossidabile, se non diversamente prescritto nella monografia, di diversa lunghezza e diametro interno (\emptyset). Le colonne con diametro interno inferiore a 2 mm sono spesso definite come colonne "microbore". La temperatura della fase mobile e della colonna devono essere mantenute a valori costanti durante l'analisi. La maggior parte delle separazioni sono effettuate a temperatura ambiente, ma le colonne possono essere riscaldate per ottenere un'efficienza più alta. Si raccomanda di non riscaldare le colonne a temperatura superiore a 60 °C a causa della potenziale degradazione della fase mobile o a cambiamenti che si verificano nella composizione della fase mobile.

Fasi mobili

Nella cromatografia in fase normale si usano i solventi meno polari. La presenza di acqua nella fase mobile deve essere controllata accuratamente in modo da ottenere risultati riproducibili. Nella cromatografia liquida in fase inversa si usano fasi mobili acquose, con o senza modificatori organici.

I componenti della fase mobile vengono generalmente filtrati per eliminare le particelle con dimensioni superiori a 0,45 μm . Le fasi mobili multicomponenti sono preparate misurando i volumi richiesti (a meno che non siano specificate le masse) dei singoli componenti, che vengono poi mescolati. Alternativamente, i solventi possono esser rilasciati da singole pompe controllate da valvole dosatrici, mediante le quali si effettua il mescolamento secondo la proporzione desiderata. I solventi, per evitare la formazione di bolle nella cella del rivelatore, vengono generalmente degassati prima del pompaggio mediante il passaggio di elio, mediante ultrasuoni o utilizzando, in linea, moduli a membrana selettiva, operando contro vuoto.

I solventi per la preparazione della fase mobile sono generalmente esenti da stabilizzanti e sono trasparenti alla lunghezza d'onda di rivelazione, se si usa un rivela-

tore all'ultravioletto. I solventi e gli altri componenti impiegati devono essere di qualità appropriata. Le correzioni del pH, se necessarie, vengono eseguite solo sul componente acquoso della fase mobile e non sulla miscela. Se si usano soluzioni tampone, si effettua un lavaggio adeguato del sistema con una miscela di acqua ed il modificatore organico della fase mobile (5 per cento *V/V*) per prevenire la cristallizzazione di sali dopo la cromatografia.

Le fasi mobili possono contenere altri componenti per es. contro-ioni nella cromatografia a scambio ionico o un selettore chirale per cromatografia che usa una fase stazionaria non chirale.

Rivelatori

I rivelatori più comunemente usati sono gli spettrofotometri ultravioletto/visibile (UV/Vis) compresi i rivelatori a serie di diodi. Si possono anche usare spettrofotometri di fluorescenza, rifrattometri differenziali, rivelatori elettrochimici, spettrometri di massa, rivelatori a diffusione della luce, rivelatori di radioattività ed altri rivelatori particolari.

METODO

Equilibrare la colonna con la fase mobile e la velocità di flusso prescritte, a temperatura ambiente o alla temperatura specificata nella monografia, fino ad ottenere una linea di base stabile. Preparare la soluzione(i) della sostanza in esame e la soluzione(i) di riferimento richieste. Le soluzioni devono essere esenti da particelle solide.

I criteri per la valutazione dell'idoneità del sistema sono descritti nel capitolo *Tecniche di separazione cromatografica* (2.2.46). In questo capitolo è anche riportato il grado delle correzioni dei parametri del sistema cromatografico che possono essere effettuati per soddisfare i criteri di idoneità del sistema.

2.2.30. CROMATOGRAFIA PER ESCLUSIONE

La cromatografia per esclusione è una tecnica cromatografica che separa le molecole, in soluzione, in funzione delle loro dimensioni. Nel caso di fasi mobili organiche, la tecnica è chiamata *cromatografia per permeazione su gel*; nel caso di fasi mobili acquose, è usato il termine *cromatografia a filtrazione su gel*. Il campione, introdotto in una colonna riempita con un gel o con un materiale di riempimento poroso, è trasportato dalla fase mobile attraverso la colonna. La separazione si realizza mediante scambi ripetuti delle molecole del

soluto tra il solvente della fase mobile e lo stesso solvente trattenuto (fase stazionaria) entro i pori del supporto. L'intervallo della dimensione dei pori del supporto determina l'intervallo delle grandezze molecolari entro il quale può avere luogo la separazione.

Le molecole abbastanza piccole da penetrare all'interno di tutti i pori del supporto, vengono eluite al *volume di permeazione totale* (V_T), mentre le molecole di dimensioni più grandi della dimensione massima dei pori del supporto migrano, lungo la colonna, passando attraverso gli spazi tra le particelle del supporto stesso, senza essere trattenute, e sono eluite al *volume di esclusione* (V_0 , volume interstiziale). La separazione delle molecole di soluto sulla base della grandezza molecolare avviene tra il volume di esclusione e il volume di permeazione totale. Buone separazioni si ottengono normalmente nei primi due terzi di questo intervallo.

Apparecchio. È costituito, essenzialmente, da una colonna cromatografica di lunghezza e diametro interno (\emptyset) variabili, se necessario termostata, riempita di un supporto, idoneo a separare le sostanze in un appropriato intervallo di dimensioni molecolari, attraverso il quale l'eluente passa ad una velocità costante. Una estremità della colonna è, in genere, collegata con un dispositivo adatto per l'introduzione del campione, come un regolatore di flusso, una siringa attraverso un setto, una valvola di iniezione. Questa estremità della colonna può anche essere collegata con una pompa adatta a controllare il flusso dell'eluente. Il campione può essere anche applicato direttamente sulla superficie drenata del supporto oppure, se il campione ha una densità superiore a quella dell'eluente, esso può essere stratificato all'interfaccia fra supporto ed eluente. L'uscita della colonna è collegata, generalmente, ad un rivelatore automatico, collegato ad un registratore che permette il monitoraggio delle concentrazioni relative dei componenti, separati, del campione. I rivelatori si basano, generalmente, su proprietà fotometriche, rifrattometriche o di luminescenza. Se necessario, si può collegare al sistema un collettore automatico di frazioni.

Il supporto può essere molle, ad esempio un gel rigonfiato, o rigido, costituito cioè da materiale come il vetro, la silice o un polimero organico reticolato, compatibile con il solvente usato. I supporti rigidi richiedono, generalmente, sistemi pressurizzati che permettono separazioni più rapide. La scelta della fase mobile dipende dalla natura del campione, dal mezzo di separazione e dal metodo di rivelazione. Prima di effettuare la separazione, il supporto viene preparato

con opportuno trattamento e la colonna impaccata come descritto nella monografia, o secondo le istruzioni del produttore.

I criteri per la valutazione dell'idoneità del sistema sono descritti nel capitolo *Tecniche di separazione cromatografica* (2.2.46). In questo capitolo è anche riportato il grado delle correzioni dei parametri del sistema cromatografico che possono essere effettuati per soddisfare i criteri di idoneità del sistema.

Determinazione della composizione relativa dei componenti delle miscele

Effettuare la separazione come indicato nella monografia. Se possibile, controllare l'eluizione dei componenti e misurare le aree corrispondenti dei picchi. Se per la rivelazione si utilizza una proprietà chimico-fisica nei confronti della quale tutti i componenti da determinare presentano risposte equivalenti (per esempio se essi hanno la stessa assorbanza specifica), calcolare la quantità relativa di ciascun componente dividendo l'area del picco corrispondente per la somma delle aree dei picchi di tutti i componenti di interesse. Se le risposte alla proprietà usata per la rivelazione dei componenti di interesse non sono equivalenti, calcolare il contenuto con l'ausilio delle curve di taratura ottenute con gli standard di taratura prescritti nella monografia.

Determinazione delle masse molecolari

La cromatografia di esclusione può essere utilizzata per determinare le masse molecolari mediante confronto con appropriati standard di taratura indicati nella monografia. I volumi di ritenzione degli standard di taratura possono essere riportati in funzione del logaritmo delle loro masse molecolari. La rappresentazione grafica ha, generalmente, l'andamento di una retta compresa fra i valori limite di esclusione e di permeazione totale caratteristici del supporto di separazione usato. Le masse molecolari possono essere determinate a partire dalla curva di taratura. La curva di taratura della massa molecolare è valida solo per il particolare sistema soluto macromolecolare/solvente utilizzato nelle specificate condizioni sperimentali.

Determinazione della distribuzione delle dimensioni molecolari di polimeri

La cromatografia per esclusione può essere utilizzata per determinare la distribuzione delle dimensioni molecolari dei polimeri. Tuttavia, il confronto tra i campioni può essere valido solo per risultati ottenuti nelle stesse condizioni sperimentali. Le sostanze di riferimento

usate per la taratura e i metodi per la determinazione della distribuzione della dimensione molecolare dei polimeri sono specificati nella monografia.

2.2.31. ELETTROFORESI

PRINCIPIO GENERALE

Sotto l'influenza di un campo elettrico le particelle cariche, disciolte o disperse in una soluzione elettrolitica, migrano verso l'elettrodo che ha la polarità opposta. Nell'elettroforesi su gel i movimenti delle particelle sono ritardati dalle interazioni con la matrice del gel circostante, che si comporta come un setaccio molecolare. Le interazioni opposte della forza elettrica e del setaccio molecolare producono flussi di migrazione differenziata a seconda delle dimensioni, delle forme e delle cariche delle particelle. A causa delle loro proprietà fisico-chimiche diverse, le differenti macromolecole di una miscela migreranno, durante l'elettroforesi, con differenti velocità e saranno separate in frazioni distinte. Le separazioni elettroforetiche possono essere condotte in sistemi senza fasi di supporto (per esempio separazione in soluzione libera nel caso della elettroforesi capillare) e in mezzi stabilizzanti come lastre su strato sottile, film o gel.

ELETTROFORESI LIBERA O CON LA TECNICA DEL LIMITE MOBILE

Questo metodo è usato principalmente per la determinazione della mobilità, essendo le caratteristiche sperimentali direttamente misurabili e riproducibili. Questo metodo si applica soprattutto alle sostanze di elevata massa molecolare relativa e bassa diffusibilità. All'inizio i "limiti" sono individuati con un procedimento fisico come la rifrattometria o la conduttometria. Dopo l'applicazione di un dato campo elettrico, per un tempo esattamente misurato, si osservano i nuovi "limiti" e le loro posizioni relative. Le condizioni sperimentali devono permettere la determinazione di tanti "limiti" quanti sono i costituenti.

ELETTROFORESI DI ZONA USANDO UN SUPPORTO

Questo metodo richiede solo l'uso di piccole quantità di campione.

La natura del supporto come carta, gel di agar, acetato di cellulosa, amido, agarosio, metacrilammide, gel misto, introduce un numero di fattori aggiuntivi che modificano la mobilità:

- a) per la sinuosità dei canali del mezzo di supporto, la distanza apparentemente percorsa è inferiore alla distanza reale,
- b) alcuni mezzi di supporto non sono elettricamente neutri. Poiché il mezzo costituisce una fase stazionaria, esso può provocare talvolta un considerevole flusso elettroendosmotico,
- c) qualunque riscaldamento dovuto all'effetto joule può provocare un'evaporazione del liquido dal mezzo di supporto, e questo, per capillarità, provoca uno spostamento della soluzione dai margini verso il centro e la forza ionica tende, di conseguenza, ad aumentare progressivamente.

La velocità di migrazione dipende quindi da quattro fattori principali: la mobilità della particella carica, il flusso elettroendosmotico, il flusso di evaporazione, l'intensità del campo. È quindi necessario operare in condizioni sperimentali ben definite ed impiegare, quando possibile, sostanze di riferimento.

Un *apparecchio* per elettroforesi è costituito da:

- un *generatore che fornisce corrente continua* il cui voltaggio può essere controllato e, preferibilmente, stabilizzato,
- una *camera per elettroforesi*, generalmente a forma di parallelepipedo, di vetro o di plastica rigida, con due compartimenti separati, anodico e catodico, contenenti la soluzione elettrolitica. In ciascun compartimento è immerso un elettrodo ad esempio di platino o di grafite. Questi sono collegati, mediante un appropriato circuito isolato, al corrispondente terminale del generatore di corrente in modo da formare l'anodo ed il catodo. Il livello di liquido nei due compartimenti è mantenuto alla stessa altezza per evitare il sifonometro.

La camera per l'elettroforesi è munita di un coperchio che assicura una chiusura ermetica al fine di mantenere un'atmosfera satura di umidità e ridurre l'evaporazione del solvente durante le operazioni. Può essere utilizzato un dispositivo di sicurezza che interrompe la corrente quando si apre il coperchio. Per potenze misurate attraverso la striscia superiori a 10 W conviene raffreddare il supporto.

– un sistema di sostegno per il supporto:

Elettroforesi su striscia. La striscia di supporto, preventivamente bagnata con la stessa soluzione elettrolitica, pesca con ciascuna estremità in un compartimento ed è convenientemente tesa e fissata su un adatto sostegno che permette di evitare la diffusione dell'elettrolita come un telaio orizzontale, un supporto a V rovesciato o una superficie uniforme con punti di contatto ad idonei intervalli.

Elettroforesi su gel. Il dispositivo è costituito essenzialmente da una lastra di vetro (ad esempio un vetrino da microscopio) su tutta la superficie del quale è deposto uno strato di gel aderente e di spessore costante. Il collegamento tra il gel e la soluzione elettrolitica è assicurato in diverse maniere, a seconda del tipo di apparecchio usato. Devono essere prese precauzioni per evitare la condensazione dell'umidità o l'essiccamento dello strato solido.

– dispositivi di misura o mezzi di rivelazione.

Metodo. Introdurre la soluzione elettrolitica nei compartimenti degli elettrodi. Porre il supporto, adeguatamente imbevuto con la soluzione elettrolitica, nella camera secondo le indicazioni specificate per il tipo di apparecchio usato. Localizzare la linea di partenza e deporre il campione. Applicare la corrente elettrica per il tempo prescritto. Alla fine, togliere la corrente, estrarre il supporto dalla camera, lasciar essiccare e procedere alla rivelazione.

ELETTROFORESI SU GEL DI POLIACRILAMMIDE

Nell'elettroforesi su gel di poliacrilammide la fase stazionaria è costituita da un gel preparato a partire da una miscela di acrilammide e *N,N'*-metilenbisacrilammide. I geli possono essere preparati in tubi lunghi 7,5 cm e con un diametro interno di 0,5 cm; una sola soluzione viene deposta in ciascun tubo.

Apparecchio. È costituito da due serbatoi, destinati a contenere le soluzioni tampone, costruiti con un materiale appropriato, quale il polimetilmetacrilato. Essi sono disposti verticalmente, uno sopra l'altro, e ciascuno di essi è munito di un elettrodo di platino. Questi due elettrodi sono collegati ad una sorgente di corrente che permette di operare a intensità costante oppure a tensione costante. L'apparecchio è munito, alla base del serbatoio superiore, di un numero di giunti equidistanti dall'elettrodo.

Metodo. Generalmente, le soluzioni devono essere degassate prima della polimerizzazione e i geli usati subito dopo la loro preparazione. Preparare la miscela di gel come prescritto e versarla in tubi di vetro idonei, chiusi all'estremità inferiore con un tappo, ad una altezza uguale in ciascun tubo, fino a circa 1 cm dal bordo superiore del tubo, avendo cura di evitare la formazione di bolle d'aria nei tubi. Ricoprire la miscela di gel con uno strato di *acqua R* per evitare il contatto con l'aria e lasciare a riposo. La formazione del gel richiede normalmente circa 30 min ed è completa quando appare una netta delimitazione tra il gel e lo strato d'acqua. Eliminare lo strato d'acqua. Riempire il serbatoio inferiore con la soluzione tampone prescritta e togliere i tappi ai tubi. Porre i tubi nei giunti del serbatoio superiore in modo che la loro estremità inferiore peschi nella soluzione tampone del serbatoio inferiore. Riempire con cura i tubi con la soluzione tampone prescritta. Preparare le soluzioni in esame e le soluzioni di riferimento contenenti il marcatore colorato prescritto e renderle dense disciogliendo in esse, per esempio, *saccarosio R*. Depositare le soluzioni sulla superficie del gel utilizzando un tubo diverso per ciascuna soluzione. Aggiungere la stessa soluzione tampone nel serbatoio superiore. Collegare gli elettrodi al generatore di corrente e procedere all'elettroforesi, utilizzando la corrente di intensità o di tensione costante prescritta e operando alla temperatura prescritta. Interrompere la corrente quando il marcatore è migrato quasi entro il serbatoio inferiore. Togliere immediatamente i tubi dall'apparecchio ed estrarre il gel. Individuare la posizione delle bande nell'elettroforetogramma operando come prescritto.

ELETTROFORESI SU GEL DI POLIACRILAMMIDE CON SODIO DODECILSOLFATO (SDS-PAGE)

Campo di applicazione. L'elettroforesi su gel di poliacrilammide è usata per la caratterizzazione qualitativa delle proteine nelle preparazioni biologiche, per il controllo della purezza e le determinazioni quantitative.

Obiettivo. L'analisi mediante elettroforesi su gel è un metodo appropriato per identificare e valutare l'omogeneità delle proteine nelle preparazioni farmaceutiche. Il metodo è normalmente usato per la misurazione delle masse molecolari delle subunità proteiche e per la determinazione della composizione delle subunità delle proteine purificate.

In commercio sono ampiamente disponibili gel pronti all'uso e reattivi che possono essere usati in luogo di

quelli descritti in questo testo, purché essi diano risultati equivalenti e soddisfino i requisiti di validità riportati nella sezione Convalida del saggio.

CARATTERISTICHE DEI GEL DI POLIACRILAMMIDE

Le proprietà di setaccio dei gel di poliacrilammide sono stabilite dalla rete tridimensionale di fibre e pori che si forma quando la bifunzionale bisacrilammide forma legami incrociati con le catene adiacenti di poliacrilammide. La polimerizzazione è catalizzata da un sistema, che genera radicali liberi, costituito da ammonio persolfato e tetrametilendiammina.

In un gel, all'aumentare della concentrazione dell'acrilammide corrisponde la diminuzione della dimensione effettiva dei suoi pori. La dimensione effettiva dei pori di un gel è definita, a livello operativo, dalle sue proprietà di setaccio molecolare, cioè dalla resistenza che esso oppone alla migrazione delle macromolecole. Esistono dei limiti alla concentrazione di acrilammide che si può impiegare. Infatti, a concentrazioni troppo elevate di acrilammide i gel si rompono più facilmente e diventano difficili da manipolare. Quando la dimensione dei pori di un gel diminuisce, diminuisce anche la velocità di migrazione di una proteina attraverso il gel. Aggiustando la dimensione dei pori di un gel, mediante variazioni della concentrazione dell'acrilammide, è possibile rendere ottimale la capacità di risoluzione del metodo per un determinato prodotto proteico. Quindi, un dato gel è caratterizzato, fisicamente, dalla sua composizione in acrilammide e bisacrilammide.

Oltre alla composizione del gel, lo stato della proteina è un componente importante della mobilità elettroforetica. Nel caso delle proteine, la mobilità elettroforetica dipende dal valore di pK dei gruppi ionizzati e dalle dimensioni della molecola. È influenzata dal tipo, dalla concentrazione e dal pH del tampone, dalla temperatura e dalla forza del campo così come dalla natura del materiale di supporto.

ELETTROFORESI SU GEL DI POLIACRILAMMIDE CON DENATURAZIONE

Il metodo citato come esempio è limitato all'analisi di polipeptidi monomerici con un intervallo di massa di 14000-100000 dalton. È possibile ampliare l'intervallo di massa usando diverse tecniche (per es. gel in gradiente, sistemi tampone particolari) ma queste tecniche non vengono discusse in questo capitolo. L'elettroforesi su gel di poliacrilammide con denatura-

zione che usa sodio dodecilsolfato (SDS-PAGE), è il metodo elettroforetico più comune usato per valutare la qualità farmaceutica di prodotti proteici e sarà il fulcro del metodo riportato come esempio. Tipicamente, l'elettroforesi analitica delle proteine è effettuata su gel di poliacrilammide in condizioni che assicurano la dissociazione delle proteine nelle singole subunità polipeptidiche e che limitano l'aggregazione. Per dissociare le proteine, prima di depositarle sul gel, si usa generalmente sodio dodecilsolfato (SDS), detergente anionico forte, associato al calore. I polipeptidi denaturati si legano al SDS, diventano carichi negativamente e presentano un consistente rapporto carica-massa indipendente dal tipo di proteina. Poiché la quantità di SDS legata è quasi sempre proporzionale alla massa molecolare del polipeptide e non dipende dalla sua sequenza, il complesso SDS-polipeptide migra attraverso i gel di poliacrilammide con mobilità che dipendono dalla dimensione del polipeptide.

Le mobilità elettroforetiche di tutti i complessi polipeptide-detergente risultanti è funzionalmente correlata alla loro massa molecolare. La migrazione dei complessi SDS avviene verso l'anodo in modo prevedibile, con i complessi a bassa massa molecolare che migrano più velocemente di quelli a massa molecolare più grande. La massa molecolare di una proteina può quindi essere valutata dalla sua mobilità relativa in SDS-PAGE tarata e il presentarsi di una singola banda in tale gel è da considerare un criterio di purezza.

Comunque, modificazioni della struttura principale del polipeptide, come la *N*-glicosilazione o la *O*-glicosilazione, hanno un impatto significativo sulla massa molecolare apparente di una proteina poiché il sodio dodecilsolfato si lega alla parte glucidica in maniera diversa di come si lega al polipeptide. Quindi non si mantiene un rapporto carica-massa costante. La massa molecolare apparente di proteine che hanno subito modificazioni post-traslazionali non riflette realmente la massa della catena polipeptidica.

Condizioni riducenti

Le subunità polipeptidiche e la struttura tridimensionale sono spesso mantenute, nelle proteine, dalla presenza di legami disolfuro. Un risultato dell'analisi SDS-PAGE in condizioni riducenti è la rottura di questa struttura attraverso la riduzione dei ponti disolfuro. La denaturazione completa e la dissociazione delle proteine mediante trattamento con 2-mercaptoetanolo o ditiotreitolo (DTT) provocano la distensione (*unfolding*) dello scheletro polipeptidico e la successiva complessazione con SDS. In queste condizioni, la massa

molecolare delle subunità polipeptidiche può essere calcolata mediante regressione lineare in presenza di standard di massa molecolare appropriata.

Condizioni non riducenti

Per alcune analisi, la dissociazione completa della proteina nelle subunità peptidiche non è desiderabile. In assenza del trattamento con agenti riducenti come il 2-mercaptoetanolo o il DTT, i legami disolfuro covalenti restano intatti e la forma oligomerica della proteina viene conservata. I complessi SDS-proteine oligomeriche migrano più lentamente dei loro complessi SDS-subunità polipeptidiche. Inoltre le proteine non ridotte possono non essere completamente saturate con il SDS e, quindi, possono non essere legate al detergente secondo un rapporto di massa costante. Questo provoca determinazioni della massa molecolare di queste molecole, mediante SDS-PAGE, meno lineari rispetto alle analisi di polipeptidi completamente denaturati poiché, al fine di un confronto valido, è necessario che sia gli standard che le proteine non note siano in una configurazione simile. Comunque, la colorazione di una singola banda in tale gel è da considerare un criterio di purezza.

CARATTERISTICHE DELL'ELETTROFORESI SU GEL IN SISTEMA TAMPONE DISCONTINUO

Il metodo elettroforetico più usato per la caratterizzazione di miscele complesse di proteine prevede l'uso di un sistema tampone discontinuo costituito da due gel vicini ma distinti: un gel (inferiore) di risoluzione o di separazione ed un gel (superiore) di impaccamento (*stacking gel*). I due gel hanno differenti porosità, pH e forza ionica. Inoltre, si utilizzano ioni mobili differenti, nel gel e nei tamponi degli elettrodi. La discontinuità del tampone agisce concentrando campioni di grande volume nel gel di impaccamento, con conseguente aumento della risoluzione. Quando si applica la corrente si verifica una caduta di tensione attraverso la soluzione campione che porta le proteine nel gel di impaccamento. Gli ioni glicinato, contenuti nel tampone dell'elettrodo, seguono le proteine nel gel di impaccamento. Si forma una regione di frontiera mobile con gli ioni cloruro, altamente mobili, nella parte anteriore e gli ioni glicinato, relativamente più lenti, nella parte posteriore. Si forma un gradiente di voltaggio elevato localizzato tra il fronte degli ioni iniziali e quello degli ioni in posizione finale, che provoca la formazione di complessi SDS-proteina in una zona sottile (*stack*) e la loro migrazione tra le fasi cloruro e glicinato. Entro ampi limiti, a seconda dell'al-

tezza del campione depositato, tutti i complessi SDS-proteina si concentrano in una regione molto stretta ed entrano nel gel di risoluzione come una zona sottile ben definita e ad alta densità proteica. Il gel di impaccamento, a pori larghi, non ritarda la migrazione della maggior parte delle proteine ed è usato principalmente come mezzo anticonvettivo. All'interfaccia tra il gel di risoluzione e quello di impaccamento, le proteine subiscono un netto rallentamento dovuto alla dimensione più piccola dei pori del gel di risoluzione. Una volta entrate nel gel di risoluzione le proteine continuano a migrare lentamente a causa dell'effetto di setaccio esercitato dalla matrice. Gli ioni glicinato raggiungono le proteine che poi si muovono in uno spazio a pH uniforme formato dal tris(idrossimetil)amminometano e dalla glicina. L'azione di setacciatura molecolare provoca la separazione dei complessi SDS-polipeptide sulla base della loro massa molecolare.

PREPARAZIONE DI GEL DI POLIACRILAMMIDE SODIO DODECILSOLFATO VERTICALI PER TAMPONI DISCONTINUI

Assemblaggio dello stampo

Lavare, con un detergente blando, due lastre di vetro (dimensioni: per es. 10 cm × 8 cm), il pettine di politetrafluoroetilene, i due spaziatori e il tubo di gomma di silicone (diametro per es. 0,6 mm × 35 cm) e lavare abbondantemente con acqua. Asciugare tutto con carta adsorbente o tessuto. Lubrificare gli spaziatori con grasso non siliconico. Posizionare gli spaziatori a 2 mm dal bordo di ciascuno dei due lati corti della lastra di vetro ed a 2 mm dal bordo di uno dei lati lunghi della lastra corrispondente al fondo del gel. Iniziare a collocare il tubo sulla lastra di vetro usando uno spaziatore come guida. Avvolgere il tubo con cura al fondo dello spaziatore e seguire il lato lungo della lastra di vetro. Mantenere il tubo in posizione con un dito sul lato lungo della lastra, piegarlo di nuovo per seguire il secondo lato corto, usando lo spaziatore come guida. Posizionare la seconda lastra di vetro in perfetto allineamento e mantenere lo stampo assemblata mediante la pressione della mano. Applicare due pinze su ciascuno dei due lati più corti dello stampo poi, con precauzione, applicare quattro altre pinze sul lato più lungo dello stampo per il gel formando così il fondo dello stampo. Verificare che il tubo corra lungo il lato della lastra di vetro e non sia stato espulso durante l'applicazione delle pinze. Lo stampo è ora pronto e può essere versato il gel.

Preparazione del gel

Per l'elettroforesi su gel di poliacrilammide sodio dodecilsolfato in tampone discontinuo, si raccomanda di versare il gel di separazione, di lasciarlo solidificare e quindi versare il gel di impaccamento, questo perché la composizione dei due gel in acrilammide-bisacrilammide tampone e pH sono differenti.

Preparazione del gel di separazione. In una beuta preparare il volume appropriato di soluzione contenente la concentrazione di acrilammide desiderata per il gel in questione, usando i valori riportati nella tabella 2.2.31.-1. Mescolare i componenti nell'ordine riportato. Se del caso, prima di aggiungere la soluzione di ammonio persolfato e la tetrametilendiammina (TEMED), filtrare la soluzione, se necessario, sotto vuoto attraverso una membrana di cellulosa acetato (diametro dei pori 0,45 μm); mantenere la soluzione sotto vuoto agitando l'unità di filtrazione fino a che non si formano più bolle nella soluzione. Aggiungere quantità appropriate della soluzione di ammonio persolfato e di tetrametilendiammina (TEMED) come indicato in Tabella 2.2.31.-1, agitare e versare immediatamente nell'apertura tra le due lastre di vetro dello stampo. Lasciare uno spazio sufficiente per il gel di impaccamento (la lunghezza dei denti del pettine più 1 cm). Usando una sottile pipetta di vetro, coprire accuratamente la soluzione con isobutanolo saturato con acqua. Lasciare polimerizzare il gel in posizione verticale a temperatura ambiente.

Preparazione del gel di impaccamento. A polimerizzazione completata (30 min circa), eliminare l'isobutanolo e lavare la sommità del gel più volte con acqua per rimuovere l'isobutanolo stratificato e l'acrilammide non polimerizzata. Rimuovere il più possibile di liquido dalla sommità del gel e poi eliminare l'acqua rimanente con un foglio di carta. In una beuta preparare il volume appropriato di soluzione contenente la concentrazione di acrilammide desiderata per il gel in questione, usando i valori riportati nella Tabella 2.2.31.-2. Mescolare i componenti nell'ordine riportato. Se del caso, prima di aggiungere la soluzione di ammonio persolfato e la tetrametilendiammina (TEMED), filtrare la soluzione, se necessario, sotto vuoto attraverso una membrana di cellulosa acetato (diametro dei pori 0,45 μm); mantenere la soluzione sotto vuoto agitando l'unità di filtrazione fino a quando nella soluzione non si formano più bolle. Aggiungere quantità appropriate della soluzione di ammonio persolfato e di tetrametilendiammina (TEMED) come indicato in Tabella 2.2.31.-2, agitare e versare immediatamente nell'apertura tra le due lastre di vetro dello stampo

direttamente sulla superficie del gel di separazione polimerizzato. Inserire immediatamente un pettine di politetrafluoroetilene, pulito, nella soluzione del gel di impaccamento, avendo cura di evitare l'intrappolamento di bolle d'aria. Aggiungere un eccesso della soluzione del gel di impaccamento in modo da riempire completamente gli spazi del pettine. Lasciare polimerizzare il gel in posizione verticale e a temperatura ambiente.

Caricamento del gel nell'apparecchio per elettroforesi e separazione elettroforetica

A polimerizzazione completata (30 min circa), rimuovere con cautela il pettine di politetrafluoroetilene. Lavare immediatamente le pareti con acqua o con *SDS-PAGE soluzione tampone di eluizione R* per eliminare l'acrilammide non polimerizzata. Se necessario, aggiustare i pozzetti del gel di impaccamento con un'ago ipodermico spuntato unito a una siringa. Rimuovere le pinze da un lato corto della lastra di vetro, rimuovere il tubo e posizionare di nuovo le pinze. Procedere allo stesso modo sull'altro lato corto. Rimuovere il tubo dalla parte inferiore del gel e montare il gel in un apparecchio per elettroforesi. Aggiungere le soluzioni tamponi per l'elettroforesi ai serbatoi inferiore e superiore. Eliminare le bolle che sono intrappolate sul fondo del gel tra le lastre di vetro. Questo si realizza nel modo migliore usando un ago ipodermico curvo con attaccata una siringa. Non eseguire mai una pre-eluzione prima del caricamento dei campioni poiché si distruggerebbe la discontinuità di sistemi tampone. Prima del caricamento del campione lavare accuratamente i pozzetti con una piccola quantità di *SDS-PAGE soluzione tampone per la eluizione R*. Preparare la soluzione in esame e la soluzione di riferimento nella soluzione tampone raccomandata e trattarle come descritto nella specifica monografia. Depositare il volume appropriato di ciascuna soluzione nei pozzetti del gel di impaccamento. Dare inizio all'elettroforesi secondo le istruzioni raccomandate dal produttore dell'apparecchio. I produttori di apparecchi per SDS-PAGE possono fornire gel con area superficiale e spessore diversi. Il tempo di corsa dell'elettroforesi e la corrente o il voltaggio possono variare come descritto dal produttore dell'apparecchio, al fine di ottenere una separazione ottimale. Verificare che il fronte colorato si muova lungo il gel di separazione. Quando il colore ha raggiunto il fondo del gel arrestare l'elettroforesi. Rimuovere il gel dall'apparecchio separando le lastre di vetro. Togliere gli spaziatori, tagliare ed eliminare il gel di impaccamento ed procedere immediatamente con la colorazione.

Tabella 2.2.31.-1. Preparazione del gel di risoluzione

Componenti della soluzione	Volumi dei componenti (ml) per uno stampo del volume di							
	5 ml	10 ml	15 ml	20 ml	25 ml	30 ml	40 ml	50 ml
Acrilammide 6 per cento								
<i>Acqua R</i>	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	15,9	21,2	26,5
Acrilammide soluzione ⁽¹⁾	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	8,0	10,0
1,5 M Tris (pH 8,8) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,004	0,008	0,012	0,016	0,02	0,024	0,032	0,04
Acrilammide 8 per cento								
<i>Acqua R</i>	2,3	4,6	6,9	9,3	11,5	13,9	18,5	23,2
Acrilammide soluzione ⁽¹⁾	1,3	2,7	4,0	5,3	6,7	8,0	10,7	13,3
1,5 M Tris (pH 8,8) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,003	0,006	0,009	0,012	0,015	0,018	0,024	0,03
Acrilammide 10 per cento								
<i>Acqua R</i>	1,9	4,0	5,9	7,9	9,9	11,9	15,9	19,8
Acrilammide soluzione ⁽¹⁾	1,7	3,3	5,0	6,7	8,3	10,0	13,3	16,7
1,5 M Tris (pH 8,8) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
Acrilammide 12 per cento								
<i>Acqua R</i>	1,6	3,3	4,9	6,6	8,2	9,9	13,2	16,5
Acrilammide soluzione ⁽¹⁾	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	16,0	20,0
1,5 M Tris (pH 8,8) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
Acrilammide 14 per cento								
<i>Acqua R</i>	1,4	2,7	3,9	5,3	6,6	8,0	10,6	13,8
Acrilammide soluzione ⁽¹⁾	2,3	4,6	7,0	9,3	11,6	13,9	18,6	23,2
1,5 M Tris (pH 8,8) ⁽²⁾	1,2	2,5	3,6	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
Acrilammide 15 per cento								
<i>Acqua R</i>	1,1	2,3	3,4	4,6	5,7	6,9	9,2	11,5
Acrilammide soluzione ⁽¹⁾	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0	20,0	25,0
1,5 M Tris (pH 8,8) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02

(1) Acrilammide soluzione: acrilammide/bisacrilammide (29:1) 30 per cento soluzione R.
(2) 1,5 M Tris (pH 8,8): tampone soluzione tris-cloridrato 1,5 M a pH 8,8 R.
(3) 100 g/l SDS: una soluzione (100 g/l) di sodio dodecilsolfato R.
(4) 100 g/l APS: una soluzione (100 g/l) di ammonio persolfato R. L'ammonio persolfato fornisce i radicali liberi che guidano la polimerizzazione di acrilammide e di bisacrilammide. Poiché la soluzione di ammonio persolfato si decompone lentamente, le soluzioni devono essere preparate settimanalmente.
(5) TEMED: tetrametiletilendiammina R.

Tabella 2.2.31.-2. Preparazione del gel di impaccamento

Componenti della soluzione	Volumi dei componenti (ml) per uno stampo del volume di							
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	6 ml	8 ml	10 ml
Acqua R	0,68	1,4	2,1	2,7	3,4	4,1	5,5	6,8
Acrilammide soluzione ⁽¹⁾	0,17	0,33	0,5	0,67	0,83	1,0	1,3	1,7
1,0 M Tris (pH 6,8) ⁽²⁾	0,13	0,25	0,38	0,5	0,63	0,75	1,0	1,25
100 g/l SDS ⁽³⁾	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
100 g/l APS ⁽⁴⁾	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
TEMED ⁽⁵⁾	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005	0,006	0,008	0,01

(1) Acrilammide soluzione: *acrilammide/bisacrilammide (29:1) 30 per cento soluzione R.*
 (2) 1,0 M Tris (pH 6,8): *tampone soluzione tris-cloridrato 1,5 M a pH 6,8 R.*
 (3) 100 g/l SDS: una soluzione (100 g/l) di *sodio dodecilsolfato R.*
 (4) 100 g/l APS: una soluzione (100 g/l) di *ammonio persolfato R.* L'ammonio persolfato fornisce i radicali liberi che guidano la polimerizzazione di acrilammide e di bisacrilammide. Poiché la soluzione di ammonio persolfato si decompone lentamente, le soluzioni devono essere preparate settimanalmente.
 (5) TEMED: *tetrametiletildiammina R.*

RIVELAZIONE DELLE PROTEINE NEI GEL

La colorazione con blu di Comassie è il metodo più comune di colorazione delle proteine, con un livello di rivelazione dell'ordine di 1-10 g di proteina per banda. La colorazione con l'argento è il metodo di colorazione più sensibile delle proteine nel gel e può rivelare una banda contenente da 10 ng a 100 ng di proteine.

Tutte le fasi di colorazione del gel vengono eseguite a temperatura ambiente agitando dolcemente (per es. con un vibratore circolare) in un recipiente appropriato. Durante la colorazione dei gel si devono indossare i guanti per evitare la colorazione delle dita.

Colorazione al blu di Comassie

Immergere il gel in un grande eccesso di *soluzione colorante di Comassie R* e lasciare a riposo per almeno 1 h. Eliminare la soluzione colorante.

Decolorare il gel con un grande eccesso di *soluzione decolorante R*. Rinnovare alcune volte la soluzione decolorante fino a quando le bande proteiche colorate saranno chiaramente distinguibili sullo sfondo chiaro. Più accuratamente il gel è decolorato, più piccola è la quantità di proteina che può essere rivelata. La decolorazione può essere resa più rapida aggiungendo alla *soluzione decolorante R* alcuni grammi di resina a scambio anionico o una piccola spugna.

NOTA: le soluzioni alcooliche acide usate in questa procedura non fissano completamente le proteine nel gel. Questo può causare la perdita di alcune proteine a bassa massa molecolare durante la colorazione e la decolorazione dei gel sottili. La fissazione permanente si ottiene lasciando il gel a riposo per 1 h, in una miscela di 1 volume di acido tricloroacetico R, 4 volumi di metanolo R e 5 volumi di acqua R, prima dell'immersione nella soluzione colorante di blu di Comassie.

Colorazione con argento

Immergere il gel in un grande eccesso di *soluzione per il fissaggio R* e lasciare a riposo per 1 h. Eliminare la soluzione per il fissaggio, aggiungere una soluzione fresca per il fissaggio ed incubare almeno per 1 h o per una notte intera se necessario. Eliminare la soluzione per il fissaggio e lavare il gel con un grande eccesso di *acqua R* per 1 h. Immergere il gel per 15 min in una soluzione (1 per cento V/V) di *glutaraldeide R*. Lavare il gel due volte, per 15 min, con un grande eccesso di *acqua R*. Immergere il gel in *argento nitrato reattivo R*, preparato di recente, per 15 min ed al buio. Lavare per tre volte, per 5 minuti, il gel con un grande eccesso di *acqua R*. Immergere il gel per 1 min circa nella *soluzione di sviluppo R* fino ad ottenere una colorazione soddisfacente. Fermare lo sviluppo mediante incubazione nella *soluzione di arresto R* per 15 min. Lavare il gel con *acqua R*.

ESSICCAMENTO DEI GEL DI POLIACRILAMMIDE-SDS COLORATI

I gel sono trattati in modo leggermente differente a seconda del metodo di colorazione usato. Per la colorazione con blu di Comassie dopo la fase di decolorazione, lasciare a riposo il gel in una soluzione (100 g/l) di *glicerolo R* per almeno 2 h (oppure incubare per una notte, se possibile). Per la colorazione con argento aggiungere al lavaggio finale una fase della durata di 5 min in una soluzione (20 g/l) di *glicerolo R*.

Immergere due fogli di cellulosa porosa in *acqua R* per 5-10 min. Disporre uno dei fogli su un dispositivo per l'essiccamento. Sollevare delicatamente il gel e deporlo sul foglio di cellulosa. Eliminare le bolle d'aria eventualmente imprigionate e versare alcuni millilitri di *acqua R* lungo i bordi del gel. Ricoprire il gel con il secondo foglio di carta ed eliminare le bolle d'aria eventualmente imprigionate. Terminare l'assemblaggio del sistema per l'essiccamento. Introdurre in stufa, o lasciar a temperatura ambiente, fino a che il gel risulta secco.

DETERMINAZIONE DELLA MASSA MOLECOLARE

La massa molecolare delle proteine viene determinata confrontando la loro mobilità con quella di marcatori proteici di massa molecolare nota. Per la taratura dei gel esistono miscele di proteine, con masse molecolari note con precisione, mescolate per ottenere una colorazione uniforme. Queste miscele sono ottenibili per differenti intervalli di masse molecolari. Le soluzioni madre, concentrate, di proteine di massa molecolare nota, vengono diluite nell'appropriato tampone utilizzato per la soluzione in esame e deposte sullo stesso gel dove viene depositato il campione proteico in esame.

Immediatamente dopo l'elettroforesi segnare la posizione del colorante azzurro bromofenolo utilizzato come tracciante per identificare il fronte elettroforetico degli ioni. Questo può essere realizzato tracciando delle tacche lungo il bordo del gel o inserendo un ago imbevuto nell'inchiostro di china. Dopo la colorazione del gel misurare la distanza di migrazione di ciascuna banda proteica (marcatori e bande non note) a partire dalla parte superiore del gel di separazione. Dividere la distanza di migrazione di ciascuna proteina per la distanza percorsa dal colo-

rante usato come tracciante. Le distanze di migrazione normalizzate così ottenute sono definite mobilità relative delle proteine (relative al fronte del colorante) e convenzionalmente indicate con R_f . Costruire un diagramma del logaritmo delle masse molecolari relative (M_r) degli standard proteici in funzione dei valori R_f . I grafici ottenuti sono leggermente sigmoidi. Le masse molecolari non note possono essere determinate mediante l'analisi di regressione lineare o mediante interpolazione delle curve del log di M_r in funzione di R_f purché i valori ottenuti per i campioni non noti siano disposti lungo la parte lineare del grafico.

CONVALIDA DEL SAGGIO

Il saggio è valido solo se le proteine utilizzate come marcatore della massa molecolare sono distribuite lungo l'80 per cento della lunghezza del gel e se, nell'intervallo di separazione richiesto (per es. l'intervallo che comprende il prodotto e il suo dimerico o il prodotto e le impurezze correlate), la separazione ottenuta per le bande proteiche principali presenta una relazione lineare tra il logaritmo della massa molecolare e l' R_f . Ulteriori requisiti di convalida per la soluzione in esame possono essere specificati nella relativa monografia.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLE IMPUREZZE

Qualora nella specifica monografia sia specificato il limite dell'impurezza, si deve preparare una soluzione di riferimento corrispondente a quella concentrazione di impurezza, diluendo la soluzione in esame. Per esempio, quando il limite è il 5 per cento, la soluzione di riferimento dovrebbe essere una diluizione 1:20 della soluzione in esame. Nessuna impurezza (nessuna banda oltre alla principale) in un elettroforetogramma ottenuto con la soluzione in esame può essere più intensa della banda principale ottenuta con la soluzione di riferimento. In condizioni convalidate le impurezze possono essere quantificate mediante normalizzazione rispetto alla banda principale usando un densitometro. In questo caso deve essere convalidata la linearità delle risposte.

2.2.32. PERDITA ALL'ESSICCAMENTO

La perdita all'essiccamento è la perdita di massa espressa in per cento m/m .

Metodo. Porre la prescritta quantità di sostanza in esame in un adatto recipiente tarato e previamente essiccato nelle condizioni richieste per la sostanza in esame. Essiccare la sostanza fino a massa costante o per il tempo indicato, secondo uno dei procedimenti riportati di seguito. Se la temperatura di essiccamento è indicata da un singolo valore invece che da un intervallo, l'essiccamento è effettuato alla temperatura prescritta ± 2 °C.

- “in essiccatore”: l'essiccamento si effettua su *anidride fosforica R* alla pressione atmosferica e a temperatura ambiente;
- “nel vuoto”: l'essiccamento si effettua su *anidride fosforica R* ad una pressione compresa fra 1,5 kPa e 2,5 kPa, a temperatura ambiente;
- “nel vuoto” con l'indicazione dell'intervallo di temperatura; l'essiccamento si effettua su *anidride fosforica R* ad una pressione compresa fra 1,5 kPa e 2,5 kPa, nell'intervallo di temperatura indicato nella monografia;
- “in stufa” con l'indicazione dell'intervallo di temperatura; l'essiccamento si effettua in stufa alla temperatura indicata nella monografia.
- “sotto vuoto spinto”; l'essiccamento si effettua su *anidride fosforica R* ad una pressione non superiore a 0,1 kPa, alla temperatura indicata nella monografia.

Se sono richieste altre condizioni, il procedimento da applicare viene integralmente descritto nella singola monografia.

2.2.33. SPETTROMETRIA DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE

La spettrometria di risonanza magnetica nucleare (NMR) si basa sul fatto che alcuni nuclei come ^1H , ^{13}C , ^{19}F e ^{31}P , hanno un momento magnetico nucleare permanente. Posti in un campo magnetico esterno (campo principale), essi assumono, in riferimento alla direzione di questo, certi orientamenti ben definiti, ai quali corrispondono livelli di energia distinti. Per un dato valore di campo, avverranno delle transizioni tra livelli di energia vicini a seguito dell'assorbimento di radiazioni elettromagnetiche a lunghezze d'onda caratteristiche nelle radiofrequenze.

La determinazione di queste frequenze può essere fatta sia mediante ricerca sequenziale delle condizioni di

risonanza (spettrometria ad onda continua) che mediante eccitazione simultanea di tutte le transizioni per mezzo di un impulso a frequenza multipla seguito da una analisi computerizzata del segnale di decadimento libero della radiazione emessa quando il sistema ritorna allo stato iniziale (spettrometria ad impulso).

Uno spettro di risonanza magnetica *protonica* si presenta come un insieme di segnali che corrispondono a protoni e che sono caratteristici del loro intorno nucleare ed elettronico nella molecola. La separazione tra un dato segnale e quello di una sostanza di riferimento è chiamata spostamento chimico (δ) e viene espressa in parti per milione (ppm); essa caratterizza il tipo di protone in termini del suo intorno elettronico. I segnali sono frequentemente suddivisi in gruppi di picchi correlati, chiamati doppietti, tripletti ...multipletti; questa suddivisione è dovuta alla presenza di campi magnetici permanenti originati da nuclei vicini, in particolare da altri protoni distanti da due a cinque legami di valenza. L'intensità di ciascun segnale, determinata dall'area sotto il segnale, è proporzionale al numero dei protoni equivalenti.

Apparecchio. Uno spettrometro di risonanza magnetica nucleare, ad onda continua, è costituito da un magnete, un generatore a scansione di bassa frequenza, un porta-campione, un emettitore e ricevitore di radiofrequenze, un registratore e un integratore elettronico. Uno spettrometro ad impulso è anche corredato di un emettitore di impulsi e di un elaboratore elettronico per acquisire, memorizzare i dati e per la loro trasformazione matematica in uno spettro convenzionale.

Utilizzare uno spettrometro di risonanza magnetica nucleare operante a non meno di 60 MHz per ^1H . Salvo indicazione contraria, attenersi alle istruzioni del produttore. Prima di registrare lo spettro verificare che:

- La risoluzione sia uguale o inferiore a 0,5 Hz, misurando la larghezza del picco a metà altezza utilizzando una appropriata espansione di scala della:
 - banda a δ 7,33 ppm o a δ 7,51 ppm del multipletto simmetrico di una soluzione al 20 per cento V/V di *diclorobenzene R* in *acetone deuterato R*,
 - oppure della banda a δ 0,00 ppm di una soluzione al 5 per cento V/V di *tetrametilsilano R* in *cloroformio deuterato R*.
- Il rapporto segnale-rumore (S/R), misurato nell'intervallo tra δ 2 ppm e δ 5 ppm sullo spettro ottenuto con una soluzione all'1 per cento V/V di *etilbenzene R* in *cloroformio deuterato R*, è almeno

di 25:1. Questo rapporto è calcolato come media di cinque successive determinazioni dall'espressione:

$$S/R = 2,5 \frac{A}{H}$$

A = ampiezza, misurata in millimetri, del picco più alto del quadrupletto dovuto al gruppo metilene dell'etilbenzene centrato a δ 2,65 ppm. Questa ampiezza viene misurata a partire dalla linea di base, costruita come mediana del rumore, su entrambi i lati del quartetto, ed a una distanza di almeno 1 ppm dal suo centro,

H = altezza da picco a picco del rumore di fondo, misurata in millimetri, ottenuta tra δ 4 ppm e δ 5 ppm.

- 3) L'ampiezza delle bande satelliti di rotazione non è superiore al 2 per cento dell'altezza del picco del campione in un tubo la cui velocità di rotazione è appropriata per lo spettrometro usato.
- 4) Per misure quantitative verificare la ripetibilità della risposta dell'integratore usando una soluzione al 5 per cento V/V di *etilbenzene R* in *clorofornio deuterato R*. Effettuare cinque scansioni successive e determinare la media dei valori ottenuti per i protoni dei gruppi fenile ed etile. Nessuno dei valori individuali differisce più del 2,5 per cento dalla media.

Metodo. Disciogliere la sostanza in esame come descritto e filtrare: la soluzione deve essere limpida. Utilizzare un riferimento interno per lo spostamento chimico che, salvo diversa indicazione, consiste in una soluzione contenente dallo 0,5 per cento V/V all'1,0 per cento V/V di *tetrametilsilano R* (TMS) in solventi organici deuterati o da 5 g/l a 10 g/l di *sodio tetradeuteriodimetilsilapentanoato R* (TSP) in *deuterio ossido R*. Prelevare la quantità necessaria e registrare lo spettro.

Spettrometria ad onda continua

Aggiustare lo spettrometro in modo che l'apparecchio funzioni quanto più possibile in assorbimento puro e utilizzare una potenza di radiofrequenza tale da evitare la saturazione dei segnali. Regolare i controlli dello spettrometro in modo che il segnale più intenso nello spettro della sostanza in esame raggiunga, press'a poco, l'estremità superiore della carta di registrazione e che il segnale del riferimento interno corrisponda ad uno spostamento chimico di δ 0,00 ppm. Registrare lo spettro nell'intervallo prescritto e, salvo indicazione contraria, ad una velocità di scansione non superiore a 2 Hz al secondo. Registrare l'integrale dei segnali nello stesso intervallo dello spettro e ad una velocità di scan-

sione adatta in funzione dell'apparecchio usato. Quando sono richieste determinazioni quantitative, attenersi a quanto prescritto.

Spettrometria ad impulso

Regolare i comandi dello spettrometro, cioè l'angolo di impulso, l'ampiezza dell'impulso e l'intervallo di tempo tra gli impulsi successivi, la larghezza spettrale ed il numero di punti (risoluzione), la velocità di acquisizione dei dati, secondo le istruzioni del fabbricante e accumulare il numero necessario dei segnali di decadimento liberi. Dopo la trasformazione matematica delle informazioni con l'elaboratore, aggiustare il controllo di fase in modo da ottenere il più possibile un assorbimento puro e tarare lo spettro in rapporto alla frequenza di risonanza del riferimento interno di spostamenti chimici. Visualizzare, su di un opportuno terminale, lo spettro memorizzato. Per le misurazioni quantitative, trattare l'integrale seguendo le prestazioni dell'apparecchio.

2.2.34. ANALISI TERMICA

L'analisi termica è un gruppo di tecniche nelle quali viene misurata la variazione di una proprietà fisica di una sostanza in funzione della temperatura. Le tecniche più comunemente usate sono quelle che misurano i cambiamenti di energia o di massa di un campione di sostanza.

TERMOGRAVIMETRIA

La termogravimetria è una tecnica nella quale la massa di un campione di sostanza viene registrata in funzione della temperatura utilizzando un programma di controllo della temperatura stessa.

Apparecchiatura. I componenti essenziali di una termobilancia sono un dispositivo per riscaldare o raffreddare la sostanza secondo un dato programma di temperatura, un portacampione in un'atmosfera controllata, una elettrobilancia e un registratore. In alcuni casi lo strumento può essere accoppiato ad un dispositivo che permette l'analisi dei prodotti volatili.

Verifica della temperatura. Controllare la scala di temperatura usando un adatto materiale secondo le istruzioni del fabbricante.

Taratura della elettrobilancia. Porre una adeguata quantità di una sostanza di riferimento certificata (per esempio, *calcio assalado monoidrato SCR*) nel portacampione e registrare la massa. Impostare la velocità di riscaldamento secondo le istruzioni del fabbricante e dare inizio all'aumento di temperatura. Registrare la curva termogravimetrica come un grafico avente la

temperatura, o il tempo, sull'asse delle ascisse, con valori crescenti da sinistra a destra e la massa sull'asse delle ordinate con valori crescenti verso l'alto. Fermare l'aumento di temperatura a circa 230 °C. Misurare sul grafico la differenza tra il tratto piano iniziale e quello finale della curva massa-temperatura o massa-tempo che corrisponde alla perdita di massa. La perdita di massa dichiarata per il materiale di riferimento certificato è riportata in etichetta.

Metodo. Applicare la stessa procedura alla sostanza in esame usando le condizioni stabilite nella monografia. Calcolare la perdita di massa della sostanza in esame dalla differenza misurata sul grafico ottenuto; esprimere la perdita di massa come per cento $\Delta m/m$.

Se l'apparecchiatura viene usata frequentemente effettuare regolarmente la verifica della temperatura e la taratura, altrimenti effettuare questi controlli prima di ogni misura.

Poiché l'atmosfera nella quale si effettua la misura è critica, vanno annotati i seguenti parametri per ciascuna misura: pressione o velocità del flusso, composizione del gas.

CALORIMETRIA DIFFERENZIALE A SCANSIONE (ANALISI CALORIMETRICA DIFFERENZIALE)

La calorimetria differenziale a scansione (Differential Scanning Calorimetry DSC) è una tecnica che può essere usata per dimostrare i fenomeni energetici prodotti durante il riscaldamento (o raffreddamento) di una sostanza (o una miscela di sostanze) e per determinare le variazioni di entalpia e calore specifico e le temperature a cui queste avvengono.

Questa tecnica è usata per determinare la differenza nel flusso di calore (con riferimento alla temperatura) emesso o assorbito dal campione analizzato in confronto con la cella di riferimento in funzione della temperatura. Sono disponibili due tipi di apparecchiature: quelle a compensazione che mantengono il campione e il riferimento alla stessa temperatura per un dato apporto di calore e quelle che applicano una velocità di riscaldamento costante e misurano una differenza di temperatura come differenza di flusso di calore tra il campione e il riferimento.

Apparecchiatura. L'apparecchiatura a compensazione è costituita da un forno contenente un porta-campione con una cella di riferimento e una cella di misura. Il secondo tipo di apparecchiatura è costituito da un forno contenente una sola cella con un porta-campione per il crogiolo di riferimento e il crogiolo di misura. Alle apparecchiature sono collegati un dispositivo di programmazione della temperatura, uno o più rivela-

tori termici e un sistema di registrazione che possono essere connessi ad un computer. Le misure sono effettuate in atmosfera controllata.

Calibrazione dell'apparecchiatura. Calibrare l'apparecchiatura per la temperatura e la variazione di entalpia, usando indio di elevata purezza o qualsiasi altro materiale appropriato certificato, secondo le indicazioni del costruttore. Una combinazione di 2 metalli, ad esempio indio e zinco, può essere usata per controllare la linearità.

Procedura operativa. Pesare in un adatto crogiolo una quantità appropriata di sostanza da esaminare; porre questo nel porta-campione. Fissare la temperatura iniziale e finale e la velocità di riscaldamento secondo le condizioni operative prescritte nella monografia.

Iniziare l'analisi e registrare la curva dell'analisi calorimetrica differenziale (ACD), con la temperatura o il tempo in ascisse (valori crescenti da sinistra a destra) e la variazione d'energia in ordinate (specificare se la variazione è endotermica o esotermica).

La temperatura a cui avviene il fenomeno (cioè la temperatura al punto di flesso) corrisponde al punto di intersezione (A) del prolungamento della linea di base con la tangente al punto di maggiore pendenza della curva (Figura 2.2.34.-1.). La fine del fenomeno termico è indicata dal picco della curva.

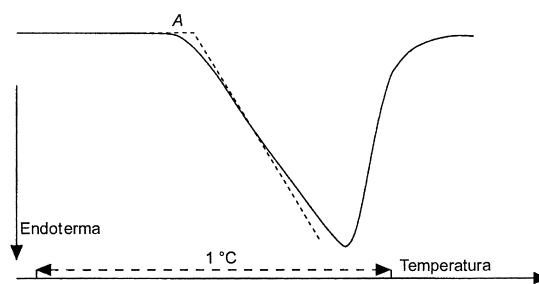


Figura 2.2.34.-1. Termogramma

L'entalpia del fenomeno è proporzionale all'area sotto la curva limitata dalla linea di base; il fattore di proporzionalità è determinato dalla misura dell'entalpia di fusione di una sostanza nota (ad es., l'indio) nelle stesse condizioni operative.

Ciascun termogramma può essere accompagnato dai seguenti dati: condizioni impiegate, registrazione dell'ultima calibrazione, grandezza ed identità del campione (compresa la sua storia termica), contenitore, atmosfera (identità, flusso, pressione), direzione e velocità del cambiamento di temperatura, sensibilità dello strumento e del registratore.

Applicazioni.

Cambiamenti (o transizioni) di fase. Determinazione della temperatura, della variazione della capacità termica e dell'entalpia delle transizioni di fase subite da una sostanza in funzione della temperatura.

transizione solido - solido:	allotropia - polimorfismo transizione vetrosa desolvatazione amorfo-cristallina
transizione solido - liquido	fusione
transizione solido - gas	sublimazione
transizione liquido - solido	solidificazione ricristallizzazione
transizione liquido - gas	evaporazione

Cambiamenti della composizione chimica. Misura delle entalpie e delle temperature di reazione in determinate condizioni sperimentali, in modo da determinare, ad esempio, la cinetica di decomposizione o di desolvatazione.

Diagrammi di fasi. Definizione di diagrammi di fasi per miscele allo stato solido. La definizione di un diagramma di fasi può essere una tappa importante nella preformulazione e ottimizzazione del processo di liofilizzazione.

Determinazione della purezza. La misura dell'entalpia e della temperatura di fusione mediante l'analisi calorimetrica differenziale permette di determinare il contenuto di impurezze di una sostanza da un singolo diagramma termico, utilizzando solo pochi milligrammi di campione e senza nessun bisogno di accurate misure ripetute della temperatura reale.

In teoria, la fusione di una sostanza pura, completamente cristallina, a pressione costante, è caratterizzata da una entalpia di fusione ΔH_f in un intervallo infinitamente stretto corrispondente alla temperatura di fusione T_0 . Un allargamento di questo intervallo costituisce un sensibile indicatore di impurezze. Quindi, campioni di una stessa sostanza i cui contenuti di impurezze differiscono di pochi decimi di percentuali, danno diagrammi termici visibilmente distinti (Figura 2.2.34.-2).

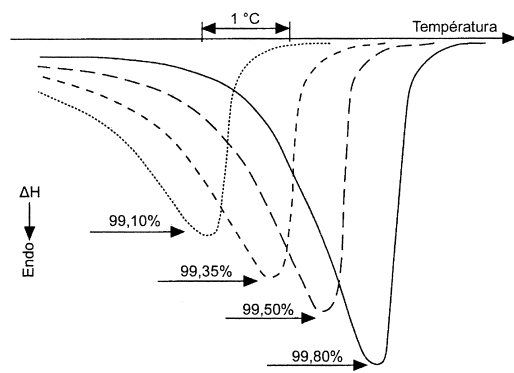


Figura 2.2.34.-2. Diagrammi termici in funzione della purezza

La determinazione della purezza molare mediante ACD è basata sull'utilizzo di una approssimazione matematica della forma integrata dell'equazione di Van't Hoff applicata alle concentrazioni (e non alle attività) in un sistema binario [$\ln(1 - x_2) = -x_2$ e $T \cdot T_0 = T_0^2$]:

$$T = T_0 - \frac{RT_0^2}{\Delta H_f} \cdot x_2 \quad (1)$$

x_2 = frazione molare dell'impurezza, cioè il numero di molecole dell'impurezza diviso per il numero totale di molecole nella fase liquida (o fusa) alla temperatura T (espressa in gradi kelvin),

T_0 = temperatura di fusione della sostanza chimicamente pura, in kelvin,

ΔH_f = entalpia molare di fusione della sostanza, in joule,

R = costante dei gas ideali, in joule·kelvin⁻¹·mole⁻¹.

Quindi, la determinazione della purezza mediante ACD è limitata alla rivelazione di impurezze che formano un eutettico con la sostanza principale e che presentano una frazione molare inferiore al 2 per cento nella sostanza in esame.

Questo metodo non può essere applicato a:

- sostanze amorfe,
- solvati o composti polimorfi che sono instabili entro l'intervallo di temperatura sperimentale,
- impurezze che formano soluzioni solide con la sostanza principale,
- impurezze che sono insolubili nella fase liquida o nella sostanza principale fusa.

Durante il riscaldamento della sostanza in esame, l'impurezza fonde completamente alla temperatura dell'eutettico. Al di sopra di questa temperatura, la fase solida contiene soltanto la sostanza pura. Come la temperatura aumenta progressivamente dalla temperatura dell'eutettico alla temperatura di fusione della sostanza pura, la frazione molare dell'impurezza nel liquido diminuisce costantemente, poiché la quantità di sostanza pura liquefatta aumenta costantemente. Per tutte le temperature superiori alla temperatura dell'eutettico:

$$x_2 = \frac{1}{F} \cdot x_2^* \quad (2)$$

F = frazione fusa del campione analizzato,

x_2^* = frazione molare dell'impurezza nel campione analizzato.

Osmolalità

Quando tutto il campione è fuso, $F=1$ e $x_2 = x_2^*$.

Combinando l'equazione (2) con l'equazione (1), si ottiene la seguente equazione:

$$T = T_0 - \frac{x_2^* RT_0^2}{\Delta H_f} \cdot \frac{1}{F}$$

Il valore della entalpia di fusione è ottenuto integrando il picco di fusione.

La temperatura di fusione T_0 della sostanza pura è estrapolata dal grafico di $1/F$ in funzione della temperatura espressa in gradi kelvin. La pendenza α della curva, ottenuta dopo eventuale linearizzazione, corrispondente a $x_2^* RT_0^2 / \Delta H_f$ permette di calcolare x_2^* .

La frazione x_2^* moltiplicata per 100 dà la frazione molare percentuale delle impurezze eutettiche totali.

TERMOMICROSCOPIA

Le transizioni di fase possono essere visualizzate con la termomicroscopia, un metodo che permette di osservare al microscopio, in luce polarizzata, un campione sottoposto ad una variazione programmata di temperatura.

Le osservazioni fatte al termomicroscopio permettono di identificare chiaramente la natura dei fenomeni rivelati usando la termogravimetria e l'analisi calorimetrica differenziale.

Apparecchiatura. L'apparecchiatura è composta da un microscopio corredato di un polarizzatore della luce, di un piatto scaldante, di un programmatore della temperatura e della velocità di riscaldamento e/o di raffreddamento e di un dispositivo di registrazione delle temperature di transizione. Può essere aggiunta una videocamera ed un videoregistratore.

2.2.35. OSMOLALITÀ

L'osmolalità è un modo pratico per esprimere il contributo dei vari soluti presenti in una soluzione alla pressione osmotica della soluzione stessa.

Una approssimazione accettabile dell'osmolalità ξ_m di una soluzione acquosa è data da:

$$\xi_m = \nu m \Phi$$

Se il soluto non è ionizzato $\nu = 1$; altrimenti ν è il numero totale di ioni preesistenti o formati per solvolisi da una molecola di soluto.

m = molalità della soluzione, ovvero il numero di moli di soluto per chilogrammo di solvente,

Φ = coefficiente osmotico molale che tiene conto delle interazioni tra ioni di carica opposta presenti

nella soluzione. Esso dipende dal valore di m . Con l'aumentare della complessità delle soluzioni diventa difficile da misurare.

L'unità di misura dell'osmolalità è la osmole per chilogrammo (osmol/kg), ma essa viene comunemente espressa anche in milliosmoli per chilogrammo (mosmol/kg).

Se non diversamente prescritto, l'osmolalità si determina mediante misura dell'abbassamento del punto di congelamento. La seguente relazione esiste tra l'osmolalità e l'abbassamento del punto di congelamento ΔT :

$$\xi_m = \frac{\Delta T}{1,86} \times 1000 \text{ mosmol/kg}$$

Apparecchio. Lo strumento (osmometro) è costituito da:

- un sistema di raffreddamento del recipiente usato per la misura,
- un sistema di misura della temperatura, costituito da una resistenza sensibile alla temperatura (termistore), con un appropriato dispositivo di misura della corrente o della differenza di potenziale, che può essere graduato in abbassamento di temperatura o direttamente in osmolalità,
- è generalmente presente un dispositivo per l'agitazione del campione.

Tabella 2.2.35.-1.- Soluzioni di riferimento per la taratura dell'osmometro

Massa in grammi di sodio cloruro R per chilogrammo di acqua R	Osmolalità reale (mosmol/kg)	Osmolalità ideale (mosmol/kg)	Coefficiente osmotico molale	Abbassamento crioscopico (C)
3,087	100	105,67	0,9463	0,186
6,260	200	214,20	0,9337	0,372
9,463	300	323,83	0,9264	0,558
12,684	400	434,07	0,9215	0,744
15,916	500	544,66	0,9180	0,930
19,147	600	655,24	0,9157	1,116
22,380	700	765,86	0,9140	1,302

Metodo. Preparare le soluzioni di riferimento come descritto in Tabella 2.2.35.-1. Determinare lo zero dello strumento con acqua R. Tarare lo strumento con le soluzioni di riferimento; introdurre nella cella di misura da 50 a 250 μl del campione ed attivare il sistema di raffreddamento. Generalmente il dispositivo per l'agitazione è programmato per operare ad una temperatura inferiore all'abbassamento crioscopico previsto onde evitare il sopraraffreddamento; un dispositivo appropriato indica il raggiungimento dell'equilibrio. Prima di ogni misura lavare la cella con la soluzione in esame.

Effettuare le stesse operazioni con la soluzione in esame. Leggere direttamente l'osmolalità o calcolarla a partire dall'abbassamento crioscopico misurato. Il saggio è valido solo se il valore trovato è compreso fra due valori della scala di taratura.

2.2.36. DETERMINAZIONE POTENZIOMETRICA DELLA CONCENTRAZIONE IONICA UTILIZZANDO ELETTRODI IONE-SELETTIVI

In un sistema ideale il potenziale E di un elettrodo ione-selettivo varia linearmente con il logaritmo dell'attività a_i di un dato ione, come espresso dalla equazione di Nernst:

$$E = E_0 + 2,303 \frac{RT}{z_i F} \log a_i$$

E_0 = parte del potenziale costante dovuto all'apparecchio utilizzato,

R = costante dei gas,

T = temperatura assoluta,

F = numero di Faraday,

z_i = carica dello ione compreso il suo segno.

A forza ionica costante:

$$E = E_0 + \frac{k}{z_i} \log f C_i$$

C_i = concentrazione molare dello ione,

f = coefficiente di attività ($a_i = f C_i$),

$k = \frac{RT}{F}$

Tabella 2.2.36.-1.- Valori di k a differenti temperature

Temperatura (°C)	k
20	0,0582
25	0,0592
30	0,0602

Se:

$$E_0 + \frac{k}{z_i} \log f = E'_0 \quad \text{e} \quad S = \frac{k}{z_i}$$

S = pendenza della curva di taratura dell'elettrodo, si ottiene:

$E = E'_0 + S \log C_i$ che ponendo $-\log C = pC_i$ dà luogo a $E = E'_0 - S pC_i$

Effettuare la determinazione potenziometrica della concentrazione ionica misurando la differenza di potenziale tra due appropriati elettrodi immersi nella

soluzione in esame; l'elettrodo indicatore è un elettrodo selettivo per lo ione da determinare e l'altro è un elettrodo di riferimento.

Apparecchio. Utilizzare un voltmetro che permette di effettuare misure con una precisione di almeno 0,1 millivolt e la cui resistenza è almeno cento volte superiore a quella dell'elettrodo utilizzato.

Gli elettrodi ione-selettivi possono essere elettrodi primari con una membrana cristallina o non cristallina o con una matrice rigida (per esempio elettrodi a vetro), o elettrodi con trasportatori mobili carichi (positivamente o negativamente) o non carichi, o elettrodi sensibilizzati (elettrodi a substrato enzimatico, elettrodi indicatori di gas). L'elettrodo di riferimento è generalmente un elettrodo argento-argento cloruro o un elettrodo a calomelano, con dei liquidi di giunzione adeguati, che non producono alcuna interferenza.

Procedimento. Effettuare ciascuna misura ad una temperatura costante a $\pm 0,5$ °C, tenendo conto della variazione della costante dell'elettrodo con la temperatura (vedi Tabella 2.2.36.-1). Aggiustare la forza ionica ed eventualmente il pH della soluzione in esame utilizzando un tampone prescritto nella monografia, equilibrare l'elettrodo immergendolo nella soluzione in esame, agitando lentamente e uniformemente fino ad ottenere una lettura costante.

Se il sistema di elettrodi si utilizza di frequente, è necessario verificare regolarmente la ripetibilità e la stabilità delle risposte, nonché la linearità della curva di taratura o l'algoritmo del calcolo, in un intervallo di concentrazioni comprendente quello della soluzione in esame. Nel caso contrario, effettuare il controllo prima di ogni determinazione. La risposta dell'elettrodo può essere considerata lineare se la pendenza S della curva di taratura è approssimativamente uguale a k/z_i , per unità di pC_i .

Metodo I (taratura diretta)

Misurare, almeno per tre volte consecutive, il potenziale di almeno tre soluzioni di riferimento, le cui concentrazioni comprendono quella presunta della soluzione in esame. Calcolare la curva di taratura o riportare su un grafico il potenziale medio E ottenuto nei confronti della concentrazione dello ione da determinare, espressa come $-\log C_i$ o pC_i .

Preparare la soluzione in esame come descritto nella monografia; misurare il potenziale per tre volte e con il valore medio del potenziale calcolare la concentrazione dello ione da determinare, utilizzando la curva di taratura.

Metodo II (metodo delle aggiunte multiple)

Preparare la soluzione in esame come descritto nella monografia. Misurare il potenziale all'equilibrio E_T di un volume V_T della soluzione a concentrazione incognita C_T dello ione da determinare. Effettuare almeno tre aggiunte consecutive di un volume V_S trascurabile confrontato a V_T ($V_S \leq 0,01 V_T$) di una soluzione di riferimento a concentrazione C_S compresa nella parte lineare della curva di taratura. Dopo ciascuna aggiunta, misurare il potenziale e calcolare la differenza di potenziale ΔE tra il potenziale misurato e E_T . ΔE è correlato alla concentrazione dello ione da determinare mediante l'equazione:

$$\Delta E = S \log \left(1 + \frac{C_S V_S}{C_T V_T} \right)$$

oppure

$$10^{\Delta E/S} = 1 + \frac{C_S V_S}{C_T V_T}$$

V_T = volume della soluzione in esame,

C_T = concentrazione dello ione da determinare nella soluzione in esame,

V_S = volume aggiunto della soluzione di riferimento,

C_S = concentrazione dello ione da determinare nella soluzione di riferimento,

S = pendenza dell'elettrodo determinata sperimentalmente, ad una temperatura costante, misurando la differenza tra i potenziali ottenuti con due soluzioni di riferimento le cui concentrazioni differiscono per un fattore dieci e sono situate in un intervallo dove la curva di taratura è lineare.

Riportare su un grafico $10^{\Delta E/S}$ (asse y) in funzione di V_S (asse x) ed estrapolare la linea ottenuta fino ad intersecare l'asse x . All'intersezione, la concentrazione C_T , riferita allo ione da determinare, della soluzione in esame viene data dall'equazione:

$$C_T = \frac{C_S V_S}{V_T}$$

Metodo III (metodo della singola aggiunta)

Ad un volume V_T della soluzione in esame preparata come descritto nella monografia, aggiungere un volume V_S di una soluzione di riferimento contenente una quantità nota dello ione da determinare e tale da dare una risposta situata nella parte lineare della curva di taratura. Preparare un bianco nelle stesse condizioni. Misurare per non meno di tre volte i potenziali della soluzione in esame e della soluzione in bianco, prima e

dopo le aggiunte della soluzione di riferimento. Calcolare la concentrazione C_T dello ione da determinare utilizzando l'equazione seguente ed effettuando le correzioni necessarie per il bianco:

$$C_T = \frac{C_S V_S}{10^{\Delta E/S}(V_T + V_S) - V_T}$$

V_T = volume della soluzione in esame o del bianco,

C_T = concentrazione dello ione da determinare nella soluzione in esame,

V_S = volume aggiunto della soluzione di riferimento,

C_S = concentrazione dello ione da determinare nella soluzione di riferimento,

ΔE = differenza tra le medie dei potenziali misurati prima e dopo le aggiunte V_S ,

S = pendenza dell'elettrodo determinata sperimentalmente, ad una temperatura costante, misurando le differenze tra i potenziali ottenuti da due soluzioni di riferimento le cui concentrazioni differiscono di un fattore dieci e sono situate entro un intervallo dove la curva di taratura è lineare.

2.2.37. SPETTROMETRIA DI FLUORESCENZA A RAGGI-X⁽¹⁾

La spettrometria di fluorescenza a raggi X dispersiva è un procedimento che utilizza la misura dell'intensità della radiazione fluorescente emessa da un elemento avente una massa atomica tra 11 e 92 quando viene eccitato da una radiazione primaria continua di raggi X. L'intensità della fluorescenza prodotta da un dato elemento dipende dalla concentrazione di questo elemento nel campione ma anche dall'assorbimento da parte della matrice della radiazione incidente e di quella fluorescente. A bassi livelli, dove la curva di taratura è lineare, l'intensità della radiazione fluorescente emessa da un elemento in una data matrice, a lunghezza d'onda stabilita, è direttamente proporzionale alla concentrazione di questo elemento e inversamente proporzionale al coefficiente di assorbimento di massa della matrice a questa lunghezza d'onda.

Metodo. Regolare e utilizzare lo strumento secondo le istruzioni date dal fabbricante. I campioni liquidi vengono posti direttamente nello strumento; i campioni solidi vengono compressi in forma di pastiglie dopo averle mescolate, se necessario, con un adatto legante. Per determinare la concentrazione di un elemento in un campione, è necessario misurare la frequenza degli impulsi prodotta da una o più preparazioni standard contenenti quantità note di questo elemento in una data matrice e calcolare o misurare il coefficiente di assorbimento di massa della matrice del campione in esame.

Taratura. Da una soluzione per la taratura o da una serie di diluizioni dell'elemento in esame in varie matrici, determinare la pendenza della curva di taratura b_0 mediante l'equazione seguente:

$$b_0 \frac{1}{\mu_M} = \frac{I_C^N}{C}$$

μ_M = coefficiente di assorbimento della matrice M, calcolato o misurato,

I_C^N = tasso di impulsi netto,

C = concentrazione dell'elemento da determinare nella preparazione standard.

Coefficiente di assorbimento di massa della matrice del campione. Se la formula empirica del campione in esame è nota, calcolare il suo coefficiente di assorbimento di massa dalla composizione elementare nota e dai coefficienti di assorbimento di massa tabulati degli elementi. Se la composizione elementare è sconosciuta, determinare il coefficiente di assorbimento di massa della matrice del campione, misurando l'intensità I_U della radiazione X diffusa (effetto Compton), mediante l'equazione seguente:

$$\frac{1}{\mu_{MP}} = a + bI_U$$

μ_{MP} = coefficiente di assorbimento di massa del campione,

I_U = radiazione X diffusa.

Determinazione della frequenza netta degli impulsi dell'elemento da determinare nel campione. Calcolare la frequenza netta degli impulsi I_{EP}^N dell'elemento da determinare dall'intensità misurata della riga di fluorescenza e dall'intensità della/e riga/righe di fondo, tenendo conto dell'eventuale presenza, nel tubo, di contaminanti.

Calcolo del contenuto in tracce. Se la concentrazione dell'elemento si trova nella parte lineare della curva di taratura, essa può essere calcolata utilizzando la formula seguente:

$$C = \frac{I_{EP}^N}{b_0 \frac{1}{\mu_{MP}}} \times f$$

f = fattore di diluizione.

- (1) G. Andermann, M. W. Kemp, *Analytical Chemistry* **30** 1306 (1958).
Z.H. Kalmann, L. Heller, *Analytical Chemistry* **34** 946 (1962).
R.C. Reynolds, Jr., *The American Mineralogist* **46** 1133 (1963).
R.O. Müller, *Spectrochimica Acta* **20** 143 (1964).
R.O. Müller, *Spektrochemische Analyse mit Röntgenfluoreszenz*, R. Oldenburg, München Wien (1967).

2.2.38. CONDUTTIVITÀ

La corrente I (ampères) che attraversa un conduttore è direttamente proporzionale alla forza elettromotrice applicata E (volts) e inversamente proporzionale alla resistenza R (ohms) del conduttore:

$$I = E/R$$

La conduttività di una soluzione (k), chiamata formalmente conduttanza specifica, è per definizione l'inverso della resistività (ρ). Quest'ultima si definisce come il quoziente tra il campo elettrico e la densità di corrente. La resistenza R (Ω) di un conduttore di sezione S (cm^2) e lunghezza L (cm) è data dall'espressione:

$$R = \rho \times L/S$$

ne segue che

$$R = 1/k \times L/S \text{ oppure } k = 1/R \times L/S$$

L/S rappresenta la costante della cella ideale.

L'unità di conduttività nel Sistema Internazionale è il siemens per metro ($\text{S} \times \text{m}^{-1}$). In pratica, la conduttività elettrica di una soluzione si esprime in siemens per centimetro ($\text{S} \times \text{cm}^{-1}$) o in microsiemens per centimetro ($\mu\text{S} \times \text{cm}^{-1}$). La unità di resistività nel Sistema Internazionale è l'ohm-metro ($\Omega \times \text{m}$). La resistività di una soluzione in generale si esprime in ohm-centimetro ($\Omega \times \text{cm}$). Salvo indicazione contraria, la temperatura di riferimento per l'espressione della conduttività o resistività è di 25 °C.

L'apparecchio e il procedimento descritto di seguito sono applicabili a misure di laboratorio di conduttività superiori a 10 $\mu\text{S} \times \text{cm}^{-1}$.

La misura della conduttività dell'acqua è descritta nelle apposite monografie.

APPARECCHIO

L'apparecchio utilizzato (conduttimetro o resistivimetro) permette di determinare il valore della resistenza della colonna di liquido tra gli elettrodi del dispositivo di misura (cella di misura). L'apparecchio è alimentato da una corrente alternata per evitare gli effetti della polarizzazione degli elettrodi. È munito di un dispositivo di compensazione per la temperatura o di un termometro di precisione.

La cella per la conduttività contiene due elettrodi paralleli di platino ricoperti di nero di platino, ciascuno con una superficie S , e separati l'uno dall'altro da una distanza L . Entrambi sono generalmente protetti da un tubo di vetro che permette un buono scambio tra la soluzione e gli elettrodi. Differenti tipi di celle possono essere usati.

PROCEDIMENTO

Determinazione della costante della cella

Scegliere una cella di misura adatta alla conduttività della soluzione in esame. La costante della cella deve essere tanto più elevata quanto più la conduttività attesa è grande (bassa ρ). Le celle comunemente utilizzate hanno costanti di cella dell'ordine di $0,1 \text{ cm}^{-1}$, 1 cm^{-1} e 10 cm^{-1} . Utilizzare un materiale di riferimento certificato, per esempio una soluzione di potassio cloruro, adatta per la misura. Il valore di conduttività della soluzione di riferimento dovrebbe avere valori di conduttività vicini a quelli della soluzione in esame. Si possono usare altre soluzioni di riferimento specialmente con celle aventi valori di costanti di $0,1 \text{ cm}^{-1}$. Lavare la cella ogni volta con *acqua distillata R* e almeno due volte con la soluzione di materiale di riferimento utilizzata per la determinazione della costante di cella. Misurare la resistenza della cella utilizzando la soluzione di riferimento a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. La costante della cella K_{cell} (in cm^{-1}) dipende dalla geometria della cella ed è definita dall'espressione

$$K_{cell} = R_{MRC} \times k_{MRC}$$

R_{MRC} = resistenza misurata, espressa in mega-ohm,

k_{MRC} = conduttività della soluzione di riferimento utilizzata espressa in microsiemens per centimetro,

La costante K_{cell} misurata della cella non deve essere superiore al 5 per cento del valore indicato,

Se la misura della costante della cella viene effettuata a temperature differenti da quella indicata per il materiale di riferimento, il valore di conduttività può essere calcolato dalla seguente espressione:

$$k_T = k_{TMRC} \times [1 + a(T - T_{MRC})]$$

k_T = valore della conduttività alla differente temperatura,

k_{TMRC} = valore di conduttività del materiale di riferimento,

T = temperatura di calibrazione,

T_{MRC} = temperatura indicata per il materiale di riferimento,

a = coefficiente di temperatura per la conduttività del materiale di riferimento; per il potassio cloruro il valore è 0,021.

Determinazione della conduttività della soluzione in esame

Dopo la taratura dell'apparecchio con una delle soluzioni di riferimento, lavare la cella di misura a più riprese con *acqua distillata R* e per non meno di due volte con la soluzione acquosa in esame. Effettuare misure successive come descritto nella monografia.

2.2.39. DISTRIBUZIONE DELLA MASSA MOLECOLARE NEI DESTLANI

Effettuare una cromatografia per esclusione (2.2.30).

Soluzione in esame. Disciogliere 0,200 g della sostanza in esame nella fase mobile e diluire a 10 ml con la fase mobile.

Soluzione del tracciante. Disciogliere 5 mg di *glucosio R* e 2 mg di *destrano V₀ SCR* in 1 ml di fase mobile.

Soluzioni per la taratura. Disciogliere separatamente, in 1 ml della fase mobile, 15 mg di *destrano 4 per la taratura SCR*, 15 mg di *destrano 10 per la taratura SCR*, 20 mg di *destrano 40 per la taratura SCR*, 20 mg di *destrano 70 per la taratura SCR* e 20 mg di *destrano 250 per la taratura SCR*.

Soluzione per l'idoneità del sistema. Disciogliere, in 1 ml della fase mobile, 20 mg di *destrano 40 per il saggio di efficienza SCR* (per l'analisi di *destrano 40*) o 20 mg di *destrano 60/70 per il saggio di efficienza SCR* (per l'analisi di *destrano 60* o di *destrano 70*).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna, lunga 30 cm e del diametro interno di 10 mm, impaccata con *agarosio reticolato per cromatografia R* o una serie di colonne, lunghe 30 cm e del diametro interno di 10 mm, impaccate con *gel di polietere idrossilato per cromatografia R*,
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 0,5-1 ml per minuto, (mantenuta costante a ± 1 per cento per ora), una soluzione contenente 7 g di *sodio solfato anidro R* e 1 g di *clorobutanolo R* in 1 litro di *acqua R*,
- come rivelatore un rifrattometro differenziale,
- un iniettore a volume fisso da 100 μl a 200 μl .

Mantenere il sistema a temperatura costante ($\pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

Taratura del sistema cromatografico. Iniettare più volte il volume scelto della soluzione del tracciante. Il cromatogramma ottenuto presenta due picchi il primo dei quali corrisponde al *destrano V₀ SCR* e il secondo corrisponde al *glucosio R*. Dal volume di eluizione del picco corrispondente al *destrano V₀*, calcolare il volume morto V_0 e dal picco corrispondente al *glucosio* calcolare il volume totale V_t .

Iniettare il volume scelto di ciascuna soluzione per la taratura. Tracciare la linea di base di ciascuno dei cromatogrammi ottenuti. Dividere ciascun cromatogramma in p (almeno 60) bande verticali uguali (corrispondenti a volumi uguali di eluizione). In ciascuna banda i , corrispondente al volume di eluizione V_i , misurare l'altezza (y_i) del tracciato cromatografico al di sopra della linea di base e calcolare il coefficiente di distribuzione K_i utilizzando l'espressione:

$$\frac{(V_i - V_o)}{(V_t - V_o)} \quad (1)$$

V_o = volume morto della colonna, determinato utilizzando il picco corrispondente al *destrano* V_o SCR, nel cromatogramma ottenuto con la soluzione del tracciante,

V_t = volume totale della colonna, determinato utilizzando il picco corrispondente al glucosio nel cromatogramma ottenuto con la soluzione del tracciante,

V_i = volume di eluizione della banda i nel cromatogramma ottenuto con ciascuna delle soluzioni per la taratura.

Effettuare la taratura utilizzando uno dei seguenti metodi.

Taratura mediante costruzione di una curva. Per ciascuno dei destrani per la taratura calcolare il coefficiente di distribuzione K_{max} corrispondente all'altezza massima del tracciato cromatografico, utilizzando l'espressione (1).

Riportare su carta semilogaritmica i valori di K_{max} (sull'asse delle x) rispetto alla massa molecolare dichiarata al massimo del tracciato cromatografico (M_{max}) di ciascuno dei destrani per la taratura e del glucosio. Tracciare una prima curva di taratura attraverso i punti ottenuti, estrapolandola dal punto K_{max} ottenuto con il *destrano 250 per la taratura SCR* al più basso valore di K ottenuto per questo *destrano SCR* (Figura 2.2.39.-1). Utilizzando questa prima curva di taratura, trasformare, per ciascun cromatogramma, tutti i valori K_i nelle corrispondenti masse molecolari M_i , in modo da ottenere la distribuzione delle masse molecolari. Calcolare per ciascun destrano per la taratura, la media delle masse molecolari M_w , utilizzando l'equazione (3) sotto riportata. La curva di taratura è accettabile se i valori calcolati per M_w non differiscono più del 5 per cento da quelli dichiarati per ciascuno dei destrani per la taratura e la differenza media è entro il ± 3 per cento. Diversamente spostare la curva di taratura lungo l'asse y e ripetere il procedimento sopra descritto finché i valori calcolati e dichiarati per M_w non differiscano più del 5 per cento.

Taratura mediante calcolo della curva. Calcolare, dalle equazioni (2) e (3) sotto riportate utilizzando un metodo adatto⁽¹⁾, i valori per $b_1, b_2, b_3, b_4, e b_5$ che danno i valori di M_w entro il 5 per cento del valore dichiarato di ciascuno dei destrani per il saggio di taratura e 180 ± 2 per il glucosio.

$$M_i = b_5 + e^{(b_4 + b_1 K_i + b_2 K_i^2 + b_3 K_i^3)} \quad (2)$$

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_{i=1}^p (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^p y_i} \quad (3)$$

p = numero delle bande che dividono i cromatogrammi,

y_i = altezza del tracciato cromatografico sopra la linea di base nella banda i ,

M_i = massa molecolare nella banda i .

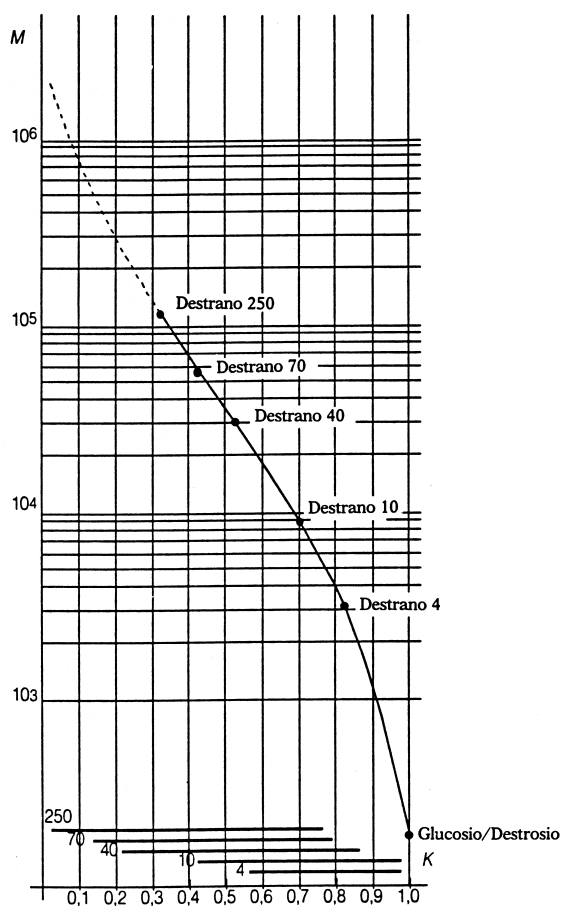


Figura 2.2.39.-1. Esempio di una curva di taratura. La linea tratteggiata corrisponde alla parte di curva estrapolata. Le linee orizzontali al fondo della figura rappresentano la larghezza e la posizione del tracciato cromatografico ottenuto con ciascuno dei destrani per la taratura.

Distribuzione della massa molecolare nei destrani

Idoneità del sistema cromatografico. Iniettare il volume scelto della appropriata soluzione per l'efficienza del sistema.

Massa molecolare media dei destrani per il saggio di efficienza SCR.

Calcolare la massa molecolare media M_w come indicato al paragrafo "Taratura del sistema cromatografico", utilizzando o la curva di taratura o i valori ottenuti per b_1, b_2, b_3, b_4 e b_5 . Il saggio è valido solo se M_w è compreso tra:

- 41000 e 47000 (*destrano 40 per il saggio di efficienza SCR*),

- 67000 e 75000 (*destrano 60/70 per il saggio di efficienza SCR*).

Massa molecolare media della frazione di destrano compresa nel 10 per cento superiore della curva di distribuzione.

Calcolare M_w per la frazione di destrano compresa nel 10 per cento superiore della curva di distribuzione che è stata eluita entro la banda n utilizzando l'equazione:

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^n y_i} \quad (4)$$

dove n è definita dalle espressioni seguenti:

$$\sum_{i=1}^n y_i \leq 0.1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (5)$$

$$\sum_{i=1}^n y_i > 0.1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (6)$$

p = numero di bande che dividono i cromatogrammi,

y_i = altezza del tracciato cromatografico sopra la linea di base nella banda i ,

M_i = massa molecolare nella banda i .

Il saggio è valido solo se M_w della frazione di destrano compresa nel 10 per cento superiore della curva di distribuzione è compreso tra:

- 110000 e 130000 (*destrano 40 per il saggio di efficienza SCR*);

- 190000 e 230000 (*destrano 60/70 per il saggio di efficienza SCR*).

Massa molecolare media della frazione di destrano compresa nel 10 per cento inferiore della curva di distribuzione.

Calcolare M_w per la frazione di destrano compresa nel 10 per cento inferiore della curva di distribuzione che è stata eluita entro e dopo la banda m utilizzando l'espressione:

$$M_w = \frac{\sum_{i=m}^p (y_i M_i)}{\sum_{i=m}^p y_i} \quad (7)$$

dove m è definita dalle espressioni seguenti:

$$\sum_{i=m}^p y_i \leq 0.1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (8)$$

$$\sum_{i=m-1}^p y_i > 0.1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (9)$$

p = numero delle bande che dividono i cromatogrammi,

y_i = altezza del tracciato cromatografico sopra la linea di base nella banda i ,

M_i = massa molecolare nella banda i .

Il saggio è valido solo se M_w della frazione di destrano compresa nel 10 per cento inferiore della curva di distribuzione è compreso tra:

- 6000 e 8500 (*destrano 40 per il saggio di efficienza SCR*),

- 7000 e 11000 (*destrano 60/70 per il saggio di efficienza SCR*).

Distribuzione della massa molecolare del destrano da analizzare. Iniettare il volume scelto della soluzione in esame e come indicato al paragrafo "Idoneità del sistema cromatografico" calcolare le M_w corrispondenti, rispettivamente, alla distribuzione della massa molecolare totale, alla frazione di destrano compresa nel 10 per cento superiore della curva di distribuzione e alla frazione di destrano compresa nel 10 per cento inferiore della curva di distribuzione.

⁽¹⁾ Un metodo iterativo è il metodo Gauss-Newton modificato da Hartley (O. Hartley, *Tecnometrics*, **3** (1961) e G. Nilsson e K. Nilsson. *J. Chromat.* **101**, 137 (1974). Può essere utilizzato un programma per microcomputer capace di una regressione non lineare.

2.2.40. SPETTROMETRIA NEL VICINO INFRAROSSO

La spettrometria nel vicino infrarosso è una tecnica particolarmente utile per l'identificazione delle sostanze organiche. Sebbene gli spettri siano limitati alle risonanze dei legami C-H, N-H, O-H e S-H essi generalmente contengono molte informazioni. Comunque gli spettri dipendono da diversi parametri come dimensioni delle particelle, polimorfismo, solventi residui, umidità... che non possono essere sempre controllati. Per questa ragione il confronto diretto tra lo spettro ottenuto con la sostanza in esame e quello di riferimento generalmente non è possibile; è richiesto pertanto un adeguato trattamento matematico convalidato dei dati.

Apparecchio. Gli spettrofotometri per la registrazione degli spettri nella regione del vicino infrarosso sono costituiti da:

- un filtro, un reticolo o un interferometro capace di fornire l'intero intervallo della radiazione elettromagnetica nella regione da circa 780 nm a circa 2500 nm (12821 cm^{-1} a 4000 cm^{-1}),
- un mezzo per raccogliere e misurare l'intensità della radiazione trasmessa o riflessa (trasmissione o riflessione), come ad esempio una sfera di integrazione, una sonda a fibra ottica ecc., accoppiato ad un appropriato rivelatore,
- un mezzo per il trattamento matematico dei dati spettrali ottenuti.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per misure di trasmissione. Questo metodo generalmente si applica ai liquidi, diluiti o non diluiti, e ai solidi in soluzione.

Esaminare i campioni in una cella di appropriato cammino ottico (generalmente da 0,5 mm a 4 mm), trasparente alle radiazioni del vicino infrarosso, o per immersione nel campione di una idonea sonda a fibre ottiche, la quale darà uno spettro situato in una zona di trasmissione compatibile con le specifiche dell'apparecchio e appropriate allo scopo.

Quando si registra uno spettro nel vicino infrarosso di un campione liquido debbono essere presi in considerazione i rischi di interferenze dipendenti dalla temperatura o ogni altro effetto di disturbo sugli spettri.

In tutti i casi la compensazione delle interferenze di fondo deve essere fatta in maniera appropriata alla configurazione ottica dello strumento, per esempio deve essere sottratta dallo spettro del campione una registrazione di riferimento dell'aria (per i liquidi) o del solvente (per le soluzioni).

Per misure di riflessione diffusa. Questo metodo generalmente si applica ai solidi.

Esaminare i campioni in un contenitore appropriato. Quando si immerge la sonda a fibre ottiche nel cam-

pione, bisogna aver cura di posizionare la sonda stessa in modo da assicurare che essa rimanga ferma durante l'acquisizione degli spettri e che le condizioni di misura siano il più possibile riproducibili da un campione all'altro.

In tutti i casi la compensazione delle interferenze di fondo deve essere fatta in maniera appropriata alla configurazione ottica dello strumento, per esempio, deve essere sottratta dallo spettro del campione una registrazione di riferimento di uno standard interno od esterno di riflessione.

Le dimensioni delle particelle e lo stato di idratazione o di solvatazione devono essere prese in considerazione.

Per misure di transflessione. Questo metodo generalmente si applica ai liquidi, diluiti o non diluiti, e ai solidi in soluzione o in sospensione.

Esaminare il campione in una cella con un appropriato riflettore a diffusione, fatto di metallo o di una sostanza inerte (per esempio ossido di titanio), che non mostri uno spettro nella regione del vicino infrarosso ed introdotto ad una appropriata concentrazione nel campione. I campioni sono esaminati come descritto in "Per misure di trasmissione" o "Per misure di riflessione diffusa".

CONTROLLO DELLE PRESTAZIONI DELLO STRUMENTO

Usare l'apparecchio secondo le istruzioni del fabbricante ed eseguire le verifiche prescritte ad intervalli regolari, secondo l'uso dell'apparecchio e delle sostanze da esaminare.

Verifica della scala delle lunghezze d'onda (eccetto che per apparecchi con filtro). Verificare la scala delle lunghezze d'onda impiegate, generalmente nella regione tra 780 nm e 2500 nm, usando appropriati standards di lunghezza d'onda con massimi caratteristici alle lunghezze d'onda in esame, per esempio polistirene o ossidi di terre rare.

Verifica della riproducibilità della lunghezza d'onda (eccetto che per apparecchi con filtro). Verificare la riproducibilità della lunghezza d'onda usando standards appropriati, per esempio polistirene o ossidi di terre rare. La deviazione standard delle lunghezze d'onda deve essere consistente con le specifiche dello spettrofotometro.

Verifica della riproducibilità della risposta. Verificare la riproducibilità della risposta usando appropriati standards, per esempio resine termoplastiche riflettive verniciate con nero di carbone. La deviazione standard delle risposte deve essere consistente con le specifiche dello spettrofotometro.

Verifica del rumore fotometrico. Determinare il rumore fotometrico usando un appropriato standard di riflettanza, per esempio una piastra di ceramica bianca riflettiva o resina termoplastica riflettiva. Effettuare

una registrazione dello standard di riflettanza in conformità con le raccomandazioni del fabbricante dello spettrofotometro e calcolare il rumore fotometrico o da picco a picco o per una data lunghezza d'onda. In questo ultimo caso il rumore fotometrico è rappresentato dalla deviazione standard delle risposte. Il rumore fotometrico è consistente con le specifiche dello spettrofotometro.

REALIZZAZIONE DI UN ARCHIVIO DI SPETTRI DI RIFERIMENTO

Registrare gli spettri di un appropriato numero di lotti della sostanza che siano stati completamente controllati come prescritto nella monografia e che mostrino le variazioni tipiche (e.g. produttore, dimensione delle particelle...) della sostanza da analizzare. L'insieme degli spettri rappresenta l'informazione che definisce il margine di similarità per quella sostanza e che costituisce il dato archiviato nell'insieme dei dati spettrali per identificare la sostanza stessa. Il numero di sostanze nell'archivio dipende dalle specifiche applicazioni.

La raccolta di spettri nell'archivio può essere effettuata in modi diversi definiti dalla tecnica matematica usata per l'identificazione. Questi possono essere:

- spettri individuali rappresentanti la sostanza,
- spettri medi di ogni sostanza ed una descrizione della variabilità.

La selettività dell'insieme dei dati utilizzati per identificare positivamente un certo materiale e discriminarlo adeguatamente nei confronti di altri materiali nell'archivio, deve essere stabilita dalla procedura di convalida. Questa selettività deve essere verificata periodicamente per assicurare nel tempo la validità dell'insieme dei dati; ciò è necessario specialmente a seguito di importanti variazioni connesse con la sostanza come, ad esempio, cambiamento del produttore o del processo di produzione del materiale.

Questo insieme di dati è quindi valido solo se usato nello strumento con il quale sono stati prodotti i dati stessi o su uno strumento simile purché sia stato dimostrato che l'insieme dei dati trasferiti sia rimasto valido.

Metodo. Preparare il campione da esaminare nello stesso modo utilizzato per produrre l'insieme dei dati presenti nell'archivio. Per facilitare il confronto tra gli spettri si può calcolare, sia per lo spettro del campione che per gli spettri di riferimento dell'archivio, una adeguata trasformazione matematica dello spettro registrato in $\log(1/T)$ o $\log(1/R)$ come, per esempio, la derivata seconda o la correzione di diffusione moltiplicativa.

Il confronto delle trasformate dello spettro del campione e degli spettri di riferimento dell'archivio richiede l'uso di una adeguata tecnica chemometrica.

2.2.41. DICROISMO CIRCOLARE

Le sostanze otticamente attive assorbono, ad una data lunghezza d'onda, la luce circolarmente polarizzata destra in maniera diversa dalla luce circolarmente polarizzata sinistra; tale proprietà è chiamata dicroismo circolare.

La misura diretta dà un valore algebrico medio:

$$\Delta A = A_L - A_R$$

ΔA = assorbanza dicroica circolare,

A_L = assorbanza della luce circolarmente polarizzata sinistra,

A_R = assorbanza della luce circolarmente polarizzata destra.

Il dicroismo circolare è calcolato usando l'equazione:

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

$\Delta \varepsilon$ = dicroismo circolare molare o assorbanza dicroica molare differenziale, espressa in litro \cdot mole⁻¹ \cdot cm⁻¹,

ε_L = assorbanza molare (2.2.25) della luce circolarmente polarizzata sinistra,

ε_R = assorbanza molare della luce circolarmente polarizzata destra,

c = concentrazione della soluzione in esame in mole \cdot litro⁻¹,

l = cammino ottico della cella in centimetri.

Per caratterizzare il dicroismo circolare possono essere usate anche le seguenti unità:

Fattore di dissimmetria:

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

ε = assorbanza molare (2.2.25).

Ellitticità molare:

Alcuni tipi di strumenti danno direttamente il valore di ellitticità Θ , espresso in gradi. Quando si usano tali strumenti, l'ellitticità molare $[\Theta]$ può essere calcolata mediante la seguente equazione:

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

$[\Theta]$ = ellitticità molare, espressa in gradi \cdot cm² \cdot decimole⁻¹,

Θ = valore della ellitticità dato dallo strumento,

M = massa molecolare relativa della sostanza da esaminare,

c = concentrazione della soluzione da esaminare in g/ml,

l = cammino ottico della cella in centimetri.

L'ellitticità molare è correlata al dicroismo circolare molare ($\Delta\epsilon$) mediante la seguente equazione:

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

La ellitticità molare è spesso usata nelle analisi delle proteine e degli acidi nucleici. In questo caso la concentrazione molare è espressa in termini di "residuo monomero", calcolato mediante l'espressione:

$$\frac{\text{massa molecolare}}{\text{numero di amminoacidi}}$$

La massa molecolare relativa media del residuo monomero è pari a 100-120 (generalmente 115) per le proteine e circa 330 per gli acidi nucleici (come sale sodico).

Apparecchiatura. La sorgente di luce (S) è una lampada allo xenon (Figura 2.2.41.-1); la luce passa attraverso un doppio monocromatore (M) dotato di prismi di quarzo (P1, P2).

Il fascio di luce lineare proveniente dal primo monocromatore è suddiviso in due componenti polarizzate ad angolo retto nel secondo monocromatore. La fenditura d'uscita del monocromatore elimina il fascio straordinario.

La luce polarizzata e monocromatica passa attraverso un modulatore birifrangente (Cr): il risultato è l'ottenimento di una luce circolarmente polarizzata, alternata.

Il fascio passa quindi attraverso il campione da esaminare (C) e raggiunge un fotomoltiplicatore (PM) seguito da un circuito amplificatore che produce due segnali elettrici: uno è una corrente diretta V_c e l'altro è una corrente alternata alla frequenza di modulazione V_{ac} caratteristica del campione da esaminare. La fase

dà il segno del dicroismo circolare. Il rapporto V_{ac}/V_c è proporzionale all'assorbimento differenziale ΔA responsabile del segnale. L'intervallo delle lunghezze d'onda normalmente coperto da un dicrografo è compreso tra 170 nm e 800 nm.

Calibrazione dell'apparecchiatura

Precisione della scala di assorbanza. Disciogliere 10,0 mg di *isoandrosterone R* in *diossano R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente. Registrare lo spettro del dicroismo circolare della soluzione tra 280 nm e 360 nm. Il valore $\Delta\epsilon$ misurato al massimo (304 nm) è pari a +3,3.

Può essere usata anche una soluzione di *acido (1S)-(+)-10-canforsolfonico R*.

Linearità della modulazione. Disciogliere 10,0 mg di *acido (1S)-(+)-10-canforsolfonico R* in *acqua R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente. Determinare la esatta concentrazione dell'acido canforsolfonico nella soluzione mediante spettrofotometria nell'ultravioletto (2.2.25), considerando che l'assorbanza specifica a 285 nm deve essere 1,49.

Registrare lo spettro del dicroismo circolare tra 185 nm e 340 nm. Misurata al massimo a 290,5 nm, $\Delta\epsilon$ è compreso tra +2,2 e +2,5. Il valore di $\Delta\epsilon$ misurato al massimo (192,5 nm) è compreso tra -4,3 e -5.

Può anche essere usato l'*(1S)-(+)-* o l'antipodo *(1R)-(-)-ammonio-10-canforsolfonato R*.

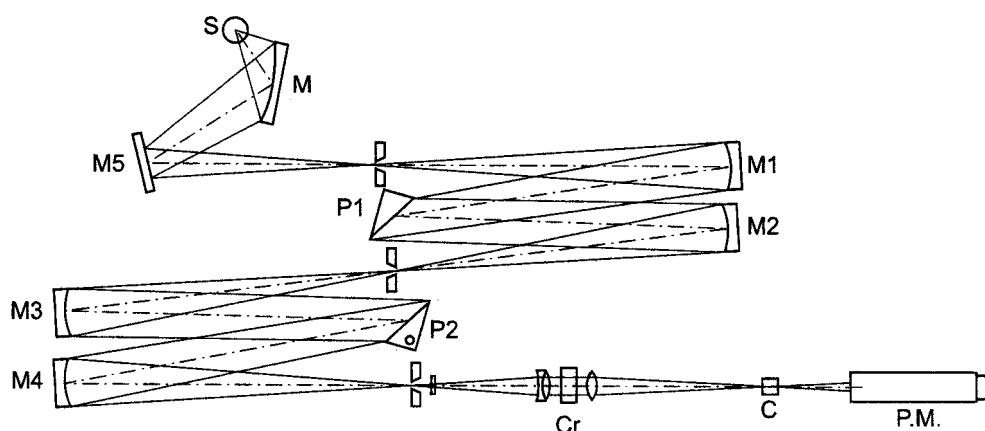


Figura 2.2.41-1. Schema ottico di un dicrografo

2.2.42. DENSITÀ DEI SOLIDI

La densità dei solidi corrisponde alla loro massa media per unità di volume e tipicamente è espressa in grammi per centimetro cubo (g/cm^3) anche se l'unità internazionale è il chilogrammo per metro cubo ($1 \text{ g}/\text{cm}^3 = 1000 \text{ kg}/\text{m}^3$).

A differenza dei gas e dei liquidi la cui densità dipende solo dalla temperatura e dalla pressione, la densità di una particella solida dipende anche dal suo assemblamento molecolare e quindi varia con la struttura cristallina e il grado di cristallinità.

Se una particella solida è amorfa o parzialmente amorfa, la sua densità può dipendere anche dalla storia della preparazione e del trattamento.

Quindi, a differenza dei fluidi, la densità di due solidi chimicamente equivalenti può essere differente e questa differenza riflette una differenza nella struttura dello stato solido. La densità delle particelle costituenti è una importante caratteristica fisica delle polveri farmaceutiche.

La densità di una particella solida può assumere valori differenti in funzione del metodo usato per misurare il volume della particella. È utile distinguere tre livelli di espressione della densità:

- la *densità di cristallo* che include solo la frazione solida del materiale; la densità di cristallo è chiamata anche *densità reale*;
- la *densità di particella* che include anche il volume dovuto ai pori intraparticellari,
- la *densità di un insieme di particelle (bulk density)* che include anche il volume vuoto interparticellare formatosi nel letto della polvere; la densità di un insieme di particelle è chiamata anche *densità apparente*.

DENSITÀ DI CRISTALLO

La densità di cristallo di una sostanza è la massa media per unità di volume, in assenza di tutti gli spazi che non sono parte fondamentale del reticolo cristallino molecolare. È una proprietà intrinseca della sostanza, e quindi dovrebbe essere indipendente dal metodo di determinazione. La densità di cristallo può essere calcolata o semplicemente misurata.

A. La *densità di cristallo calcolata* è ottenuta usando dati cristallografici (dimensione e composizione della cella unitaria) ottenuti da un cristallo perfetto (per esempio dati di diffrazione ai raggi X) e la massa molecolare della sostanza.

B. La *densità di cristallo misurata* è il rapporto massa/volume dopo la misurazione della massa e del volume di un monocristallo.

DENSITÀ DI PARTICELLA

La densità di particella tiene conto sia della densità di cristallo che della porosità intraparticellare (pori chiusi e/o aperti). Pertanto la densità di particella dipende dal valore misurato del volume che a sua volta dipende dal metodo della misurazione. La densità di particella può essere determinata mediante uno dei due metodi seguenti.

A. *Densità mediante il picnometro o densità picnometrica*: è determinata misurando (con un picnometro a spostamento di gas (2.9.23)), il volume occupato da una massa nota di polvere equivalente al volume di gas spostato dalla polvere. Nelle misurazioni picnometriche della densità, il volume determinato include il volume occupato dai pori aperti; tuttavia, esso esclude il volume occupato dai pori chiusi o dai pori inaccessibili al gas. Per l'elevata diffusività dell'elio, che è il gas preferenzialmente usato, molti dei pori aperti sono accessibili al gas stesso. Quindi, la densità picnometrica di una polvere finemente macinata non è generalmente molto differente dalla densità di cristallo.

B. *Densità mediante un porosimetro al mercurio o densità porosimetrica al mercurio* (è anche chiamata *densità granulare*). Anche con questo metodo il volume determinato esclude i contributi dei pori chiusi; comunque, esso include solo il volume dei pori aperti più grandi di una certa dimensione limite. Questa dimensione limite del poro, o diametro minimo di accesso, dipende dalla massima pressione d'intrusione del mercurio applicata durante la misurazione; alle normali pressioni operative il mercurio non penetra nei pori più piccoli accessibili all'elio. Da un unico campione possono essere ottenute varie densità granulari poiché, per ciascuna pressione di intrusione del mercurio applicata, può essere determinata una densità che corrisponde alla dimensione limite dei pori a quella pressione.

DENSITÀ DI INSIEME E DENSITÀ DA IMPACCAMENTO O COMPRESSIONE

La densità di insieme di una polvere include il contributo del volume vuoto interparticellare. La densità di insieme, dipende quindi sia dalla densità delle particelle della polvere che dalla disposizione spaziale delle particelle nel letto di polvere.

La densità di insieme di una polvere è spesso molto difficile da misurare in quanto il più piccolo disturbo del letto di polvere può dar luogo ad una nuova densità. Così che nel riportare la densità di insieme è essenziale specificare come è stata fatta la determinazione.

- A. La *densità di insieme (bulk density)* è determinata misurando in un cilindro graduato il volume di una massa nota di polvere, sottoposta precedentemente a setacciatura (2.9.34).
- B. La *densità da compressione (tapped density)* è ottenuta mediante impaccamento meccanico di un campione di polvere contenuto in un cilindro. Dopo l'osservazione del volume iniziale, il cilindro è battuto meccanicamente e le letture del volume vengono effettuate fino a che non si osserva più un'ulteriore variazione del volume (2.9.34).

2.2.43. SPETTROMETRIA DI MASSA

La spettrometria di massa è basata sulla misurazione diretta del rapporto tra la massa e il numero di cariche elementari (m/z) positive o negative degli ioni in fase gassosa derivanti dalla sostanza da analizzare. Questo rapporto è espresso in unità di massa atomica (1 u.m.a. = un dodicesimo della massa del ^{12}C) o in dalton (1 Da = massa dell'atomo di idrogeno).

Gli ioni, prodotti nella *sorgente ionica* dell'apparecchiatura, sono accelerati e poi separati mediante l'*analizzatore* prima di raggiungere il *rivelatore*. Tutte queste operazioni hanno luogo in una camera dove un sistema di pompaggio mantiene un livello di *vuoto* compreso tra 10^{-3} e 10^{-6} Pa.

Lo spettro risultante mostra l'abbondanza relativa delle varie specie ioniche presenti in funzione di m/z . Il segnale corrispondente ad uno ione sarà rappresentato da molti picchi corrispondenti alla distribuzione statistica dei vari isotopi di quello ione. L'insieme dei picchi è chiamato *profilo isotopico* e (almeno per le molecole piccole) il picco rappresentante l'isotopo più abbondante per ciascun atomo è detto *picco monoisotopico*.

L'informazione ottenuta nella spettrometria di massa è essenzialmente qualitativa (determinazione della massa molecolare, informazione sulla struttura dai frammenti osservati) o quantitativa, usando standard interni o esterni, con limiti di rilevabilità che vanno dalla picomole alla femtomole.

INTRODUZIONE DEL CAMPIONE

Il primo passo di un'analisi è l'introduzione del campione nell'apparecchiatura senza arrecare troppo disturbo al vuoto. Con un metodo comune, chiamato

introduzione liquida diretta, il campione è posto sulla estremità di una barretta cilindrica (in un crogiolo di quarzo, su un filamento o su una superficie metallica). La barretta è introdotta nello spettrometro mediante un sistema che consente di mantenere un vuoto primario intermedio tra la pressione atmosferica e il vuoto secondario dell'apparecchiatura.

Altri sistemi di introduzione del campione permettono di analizzare i componenti di una miscela man mano che essi vengono separati da un appropriato apparecchio connesso allo spettrometro di massa.

Gas cromatografia/spettrometria di massa. L'uso di adatte colonne (capillari o semi-capillari) permette all'estremità della colonna di venire introdotta direttamente nella sorgente dell'apparecchiatura senza l'uso di un separatore.

Cromatografia liquida/spettrometria di massa. Questa combinazione è particolarmente utile per le analisi di composti polari, che sono insufficientemente volatili o troppo labili al calore per poter essere analizzati mediante gas cromatografia accoppiata con la spettrometria di massa. Questo metodo è reso complicato dalla difficoltà di ottenere ioni in fase gassosa da una fase liquida, il che richiede interfacce altamente specifiche quali:

- *introduzione diretta del liquido*: la fase mobile è nebulizzata e il solvente è evaporato prima della sorgente ionica dell'apparecchiatura,
- *interfaccia a fascio di particelle*: la fase mobile, che può scorrere ad una velocità di flusso di circa 0,6 ml/min, è nebulizzata in una camera di desolvatazione in modo che solo gli analiti, in forma neutra, raggiungano la sorgente ionica dello strumento; questa tecnica è usata per i composti di polarità relativamente bassa con masse molecolari minori di 1000 Da,
- *interfaccia con nastro di trascinamento*: la fase mobile, che può fluire ad una velocità fino a 1 ml/min, è depositata sulla superficie di un nastro mobile; dopo l'evaporazione del solvente, i componenti da analizzare sono portati in successione alla sorgente ionica dell'apparecchio dove vengono ionizzati; questa tecnica è poco adatta per composti molto polari o labili al calore.

Altri tipi di accoppiamento (“electrospray”, “thermospray”, ionizzazione chimica a pressione atmosferica) sono considerati vere e proprie tecniche di ionizzazione e vengono descritti nella sezione sui modi di ionizzazione.

Cromatografia con fluidi supercritici/spettrometria di massa. La fase mobile, costituita usualmente da anidride carbonica in fase supercritica, passa in fase gassosa dopo aver attraversato un restrittore scaldato posto tra la colonna e la sorgente ionica.

Elettroforesi capillare/spettrometria di massa. L'eluente è introdotto nella sorgente ionica, in alcuni casi dopo l'aggiunta di un altro solvente in modo da ottenere una velocità di flusso dell'ordine di alcuni microlitri al minuto. Questa tecnica è limitata dalle piccole quantità di campione introdotto e dalla necessità di usare tamponi volatili.

MODI DI IONIZZAZIONE

Impatto elettronico. Il campione, allo stato gassoso, è ionizzato mediante un fascio di elettroni la cui energia (in genere 70 eV) è maggiore dell'energia della ionizzazione del campione. Oltre all'ione molecolare M^+ , si osservano frammenti caratteristici della struttura molecolare. Questa tecnica è limitata essenzialmente dalla necessità di vaporizzare il campione. Ciò la rende inadatta per composti polari, labili al calore o ad alta massa molecolare. L'impatto elettronico è compatibile con l'accoppiamento della gas cromatografia alla spettrometria di massa e qualche volta con l'uso della cromatografia liquida.

Ionizzazione chimica. Questo tipo di ionizzazione coinvolge un reattivo gassoso come il metano, l'ammoniaca, l'ossido di azoto, il diossido d'azoto o l'ossigeno. Lo spettro è caratterizzato da ioni del tipo $(M+H)^+$ o $(M-H)^-$, o ioni addotti formati dall'analita e dal gas usato. Si producono meno frammenti rispetto all'impatto elettronico. Una variante di questa tecnica è usata quando la sostanza è labile al calore: il campione, applicato ad un filamento, è vaporizzato molto rapidamente mediante l'effetto Joule-Thomson (ionizzazione chimica per desorbimento).

Ionizzazione mediante bombardamento con atomi veloci ("fast atom bombardment", FAB) o con ioni veloci ("liquid secondary-ion mass spectrometry", LSIMS). Il campione, disciolto in una matrice viscosa come il glicerolo, è applicato ad una superficie metallica e ionizzato mediante un fascio di atomi neutri come l'argon o lo xenon o ioni cesio ad alta energia cinetica. Si producono ioni del tipo $(M+H)^+$ o $(M-H)^-$ o ioni addotti formati dalla matrice o dal campione. Questo tipo di ionizzazione, adatto per i composti polari e labili al calore, permette l'analisi di masse molecolari fino a 10000 Da. La tecnica può essere combinata con la cromatografia liquida mediante aggiunta dell'1-2 per cento di glicerolo alla fase mobile; comunque, le velocità di flusso devono essere molto basse

(pochi microlitri al minuto). Queste tecniche di ionizzazione permettono anche di analizzare lastre di cromatografia su strato sottile, applicando uno strato sottile di matrice alla superficie di queste lastre.

Ionizzazione per desorbimento di campo e ionizzazione di campo. Il campione è vaporizzato vicino ad un filamento di tungsteno coperto con microaghi (*ionizzazione di campo*) o depositato su questo filamento (*desorbimento di campo*). Un voltaggio di circa 10 kV, applicato tra questo filamento e un controlettrodo, ionizza il campione. Queste due tecniche producono essenzialmente ioni molecolari M^+ e $(M+H)^+$ e sono usati per composti a bassa polarità e/o labili al calore.

Ionizzazione per desorbimento mediante laser assistita da matrice ("matrix-assisted laser desorption ionisation", MALDI). Il campione, in un'adatta matrice e depositato su un supporto di metallo, è ionizzato da un fascio laser a impulsi la cui lunghezza d'onda rientra tra l'UV e l'IR (gli impulsi durano da un picosecondo a alcuni nanosecondi). Questo modo di ionizzazione gioca un ruolo essenziale nella analisi di composti a grande massa molecolare (più di 100000 Da) ma può essere utilizzata solo con analizzatori a tempo di volo (vedi sotto).

"Electrospray". Questo tipo di ionizzazione è effettuato a pressione atmosferica. I campioni, in soluzione, sono introdotti nella sorgente mediante un tubo capillare, la cui estremità ha un potenziale di 5 kV. Per facilitare la nebulizzazione può essere usato un gas. La desolvatazione delle risultanti microgocce dà luogo, nella fase gassosa, a ioni con carica unitaria o multipla. La velocità di flusso varia da pochi microlitri per minuto ad 1 ml/min. Questa tecnica è adatta per i composti polari e per l'investigazione di biomolecole con masse molecolari fino a 100000 Da. Può essere accoppiata alla cromatografia liquida o all'elettroforesi capillare.

Ionizzazione chimica a pressione atmosferica ("atmospheric-pressure chemical ionisation", APCI). La ionizzazione è effettuata a pressione atmosferica mediante l'azione di un elettrodo mantenuto ad un potenziale di diversi kilovolts e posto nel cammino della fase mobile, che è nebulizzata sia da effetti termici che dall'uso di un flusso di azoto. Gli ioni risultanti hanno cariche unitarie e sono del tipo $(M+H)^+$ quando positivi e di tipo $(M-H)^-$ quando negativi. Le elevate velocità di flusso che possono essere usate con questo tipo di ionizzazione (fino a 2 ml/min) rendono questa tecnica ideale per l'accoppiamento alla cromatografia liquida.

"Thermospray". Il campione, in una fase mobile costituita da acqua e modificatori organici e contenente un elettrolita volatile (generalmente acetato di ammonio), è introdotto in forma nebulizzata dopo aver attraver-

sato un tubo capillare di metallo a temperatura controllata. Velocità di flusso accettabili sono dell'ordine di 1-2 ml/min. Gli ioni dell'elettrolita ionizzano i composti da analizzare. Questo processo di ionizzazione può essere sostituito o rafforzato da una scarica elettrica di circa 800 volts, specialmente quando i solventi sono interamente organici. Questa tecnica è compatibile con l'uso di cromatografia liquida accoppiata con la spettrometria di massa.

ANALIZZATORI

Differenze nella performance degli analizzatori dipendono principalmente da due parametri:

- l'intervallo nel quale i rapporti m/z possono essere misurati, detto *intervallo di massa*,
- il loro *potere di separazione*, caratterizzato dalla capacità di separare due ioni di uguali intensità con rapporti m/z che differiscono di ΔM e la cui sovrapposizione è espressa come una data percentuale della definizione di valle; per es. un potere di separazione ($M/\Delta M$) di 1000 con una definizione di valle del 10 per cento consente la separazione di rapporti m/z di 1000 e 1001 con un valore dell'intensità del segnale che ritorna al 10 per cento sopra la linea di base. Comunque, il potere di separazione in alcuni casi (analizzatori a tempo di volo, quadrupoli, analizzatori a trappola ionica) può essere definito come il rapporto tra la massa molecolare e l'ampiezza del picco a metà altezza (50 per cento della definizione di valle).

Analizzatori magnetici ed elettrostatici. Gli ioni prodotti nella sorgente ionica sono accelerati mediante un voltaggio V e focalizzati verso un analizzatore magnetico (campo magnetico B) o un analizzatore elettrostatico (campo elettrostatico E) a seconda della configurazione dello strumento. Essi seguono una traiettoria di raggio r secondo la legge di Laplace:

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

Possono essere usati due tipi di scansione per raccogliere e misurare i vari ioni prodotti dalla sorgente di ioni: una scansione di B mantenendo V fisso o una scansione di V con B costante. L'analizzatore magnetico è generalmente seguito da un settore elettrico che agisce come un filtro ad energia cinetica e consente di aumentare in modo apprezzabile il potere di risoluzione dello strumento. Il potere di risoluzione massimo di un tale strumento (doppio settore) è compreso tra 10000 e 150000 e nella maggior parte dei casi permette di calcolare il valore del rapporto m/z con una accuratezza sufficiente a determinare la composizione elementare dei

corrispondenti ioni. Per ioni con una sola carica l'intervallo di massa è compreso tra 2000 Da e 15000 Da. Alcuni ioni possono decomporsi spontaneamente (transizioni metastabili) o a causa di collisioni con un gas (dissociazione attivata da collisione (CDA)) in regioni libere da campo tra la sorgente ionica e il rivelatore. L'esame di queste decomposizioni è molto utile per la determinazione di strutture e la caratterizzazione di specifici composti in miscele e coinvolge la spettrometria di massa in tandem. Esistono molte di queste tecniche in funzione della regione in cui si verifica la decomposizione:

- *modo dello ione figlio* (determinazione degli ioni di decomposizione di un dato ione genitore): $B/E = \text{costante}$, *MIKES* ("mass-analysed ion kinetic energy spectroscopy", *Spettroscopia dell'energia cinetica degli ioni mediante analisi di massa*),
- *modo dello ione genitore* (determinazione di tutti gli ioni che mediante decomposizione danno un ione con uno specifico rapporto m/z): $B^2/E = \text{costante}$,
- *modo della perdita di un frammento neutro* (*neutral-loss mode*, rilevamento di tutti gli ioni che perdono lo stesso frammento):

$B/E (1-E/E_0)^{1/2} = \text{costante}$, dove E_0 è il voltaggio di base del settore elettrico.

Quadrupoli. L'analizzatore è costituito da quattro barre metalliche parallele che hanno una sezione cilindrica o iperbolica. Esse sono disposte simmetricamente rispetto alla traiettoria degli ioni; le coppie diagonalmente opposte all'asse di simmetria delle barre sono collegate elettricamente. I potenziali alle due coppie di barre sono opposti. Essi sono la risultante di una componente costante e di una componente alternata. Gli ioni prodotti nella sorgente di ioni sono trasmessi e separati variando i voltaggi applicati alle barre in modo che il rapporto tra il voltaggio continuo e il voltaggio alternato rimanga costante. I quadrupoli hanno generalmente un intervallo di massa tra 1 u.a.m. e 2000 u.a.m. ma alcuni possono raggiungere anche le 4000 u.a.m. Sebbene essi abbiano un potere risolutivo inferiore a quello degli analizzatori con settore magnetico, consentono tuttavia di ottenere il profilo monoisotopico di ioni a carica singola per l'intero intervallo di massa. È possibile ottenere spettri usando tre quadrupoli disposti in serie Q_1, Q_2, Q_3 (Q_2 serve come cella di collisione e non è un analizzatore in senso proprio; il gas di collisione più comunemente usato è l'argon).

I tipi di scansione più comuni sono i seguenti:

- *modo dello ione figlio*: Q_1 seleziona uno ione m/z i cui frammenti ottenuti per collisione in Q_2 sono analizzati da Q_3 ,

- *modo dello ione genitore*: Q_3 filtra solo uno specifico rapporto m/z , mentre Q_1 scansiona un dato intervallo di massa. Sono rivelati solo gli ioni che si decompongono per dare lo ione selezionato da Q_3 ,
- *modo della perdita di un frammento neutro*: Q_1 e Q_3 scansionano un certo intervallo di massa ma ad un "offset" corrispondente alla perdita di un frammento caratteristico di un prodotto o di una famiglia di composti.

È anche possibile ottenere degli spettri combinando analizzatori a quadrupolo con strumenti aventi un settore magnetico o elettrostatico; questi strumenti sono chiamati *spettrometri di massa ibridi*.

Analizzatori a trappola di ioni. Il principio è lo stesso di quello di un quadrupolo, questa volta con i campi elettrici in tre dimensioni. Questo tipo di analizzatore consente di ottenere spettri di prodotto-ione su diverse generazioni (MS^n).

Analizzatori a risonanza ione-ciclotrone. Gli ioni prodotti in una cella e soggetti a un intenso campo magnetico uniforme si muovono in orbite circolari a frequenze che possono essere correlate direttamente al loro rapporto m/z applicando l'algoritmo della trasformata di Fourier. Questo fenomeno è chiamato risonanza ione-ciclotrone. Gli analizzatori di questo tipo sono costituiti da magneti superconduttori e sono capaci di un altissimo potere risolutivo (fino a 1000000 e più) così come di spettri MS^n . Tuttavia sono richieste pressioni bassissime (dell'ordine di 10^{-7} Pa).

Analizzatori a tempo di volo. Gli ioni prodotti alla sorgente ionica sono accelerati ad un voltaggio V di 10-20 kV. Essi passano attraverso l'analizzatore, costituito da un tubo privo di campo lungo da 25 cm a 1,5 m, generalmente detto *tubo di volo*. Il tempo (t) per uno ione per raggiungere il rivelatore è proporzionale alla radice quadrata del rapporto m/z . Teoricamente l'intervallo di massa di questo analizzatore è infinito. In pratica è limitato dal metodo di ionizzazione o di desorbimento. Gli analizzatori a tempo di volo sono principalmente usati per composti ad alta massa molecolare (fino a diverse centinaia di migliaia di Dalton). Questa tecnica è sensibilissima (sono sufficienti poche picomoli di prodotto). L'accuratezza delle determinazioni e il potere risolutivo di questi strumenti possono essere aumentati considerevolmente usando uno specchio elettrostatico (reflectron).

ACQUISIZIONE DEL SEGNALE

Esistono essenzialmente tre modi possibili.

Modo dello spettro completo. Si registra l'intero segnale ottenuto per l'intervallo di massa scelto. Lo spettro rap-

presenta l'intensità relativa delle differenti specie ioniche presenti come funzione di m/z . I risultati sono essenzialmente qualitativi. Per una più rapida identificazione è possibile utilizzare collezioni di spettri di riferimento.

Modo frammentometrico (rilevamento di ioni selezionati). Il segnale acquisito è limitato ad uno (*rilevamento di un singolo ione* ("single ion monitoring", SIM)) o ad alcuni (*rilevamento di più ioni* ("multiple ion monitoring", MIM)) ioni caratteristici della sostanza da analizzare. Il limite di rivelazione di questo modo può essere considerevolmente abbassato. Usando standard esterni o interni (per es., standard deuterati) si possono effettuare saggi quantitativi o semiquantitativi. Questi saggi non possono essere effettuati con analizzatori a tempo di volo.

Modo frammentometrico con doppia spettrometria di massa (rilevamento con reazione multipla ("multiple reaction monitoring", MRM)). Viene seguita la decomposizione unimolecolare o bimolecolare di un certo precursore ionico caratteristico della sostanza da analizzare. La selettività e la natura altamente specifica di questo modo di acquisizione fornisce eccellenti livelli di sensibilità e lo rende il più appropriato per studi quantitativi con l'impiego di standard interni adeguati (per es., standard deuterati). Questo tipo di analisi può essere effettuata solo con apparati costituiti da tre quadrupoli in serie, analizzatori a trappola ionica o analizzatori a risonanza ciclotronica.

CALIBRAZIONE

La calibrazione permette l'attribuzione al segnale rilevato del corrispondente valore m/z . In linea generale questo si effettua usando una sostanza di riferimento. Questa calibrazione può essere esterna ("file" di acquisizione separati dall'analisi) o interna (la/e sostanza/e di riferimento è/sono mescolata(e) con la sostanza in esame e compare nello stesso "file" di acquisizione). Il numero di ioni o di punti richiesto per una adeguata calibrazione dipende dal tipo di analizzatore e dall'accuratezza desiderata per la determinazione, per es., nel caso di un analizzatore magnetico, in cui il rapporto m/z varia in modo esponenziale con il valore del campo magnetico, dovrebbero esserci più punti possibili.

RILEVAMENTO DEL SEGNALE ED ELABORAZIONE DEI DATI

Gli ioni separati dall'analizzatore sono convertiti in segnali elettrici da un sistema di rilevamento come un fotomoltiplicatore o moltiplicatore elettronico. Questi segnali sono amplificati prima di essere riconvertiti in

segnali digitali per l'elaborazione dei dati, permettendo diverse funzioni quali calibrazione, ricostruzione di spettri, quantificazione automatica, archiviazione, creazione o uso di collezioni di spettri di massa. I diversi parametri fisici richiesti per il funzionamento dell'apparato in toto sono gestiti da un elaboratore.

2.2.44. CARBONIO ORGANICO TOTALE NELL'ACQUA PER USO FARMACEUTICO

La determinazione del carbonio organico totale (TOC) è una misura indiretta delle sostanze organiche presenti nell'acqua per uso farmaceutico. La determinazione del carbonio organico totale può anche essere usata per controllare la esecuzione di diverse operazioni nella preparazione dei medicinali.

È disponibile una varietà di metodi accettabili per la determinazione del carbonio organico totale. Questo capitolo generale, piuttosto che prescrivere un dato metodo da utilizzare, descrive le procedure usate per qualificare il metodo scelto e per l'interpretazione dei risultati nei saggi limite. Una soluzione standard viene analizzata ad intervalli appropriati a seconda della frequenza delle determinazioni; la soluzione è preparata con una sostanza che si presuppone sia facilmente ossidabile (per es. saccarosio) ad una concentrazione aggiustata in modo da dare una risposta strumentale corrispondente al limite del carbonio organico totale che deve essere misurato. L'idoneità del sistema viene determinata mediante l'analisi di una soluzione preparata con una sostanza che si presume si ossidi con difficoltà (per es. 1,4-benzochinone).

I vari tipi di apparecchi usati per misurare il carbonio organico totale nell'acqua per uso farmaceutico hanno in comune l'obiettivo di ossidare completamente le molecole organiche nel campione di acqua per produrre carbonio diossido seguito dalla determinazione del carbonio diossido prodotto; il risultato è usato per calcolare la concentrazione del carbonio nell'acqua.

L'apparecchio usato deve discriminare tra il carbonio organico e il carbonio inorganico, quest'ultimo presente come carbonato. La misura può essere effettuata misurando il carbonio inorganico e sottraendo il valore trovato dal carbonio totale oppure rimuovendo il carbonio inorganico dal campione prima dell'ossidazione. La rimozione può anche coinvolgere molecole organiche, ma questo carbonio organico è presente in quantità trascurabili nell'acqua per uso farmaceutico.

Apparecchio. Usare uno strumento calibrato installato in linea o fuori linea. Verificare l'idoneità del sistema

ad intervalli appropriati come descritto di seguito. L'apparecchio deve avere un limite di rivelazione, specificato dal produttore, inferiore o uguale a 0,05 mg di carbonio per litro.

Acqua per la determinazione del carbonio organico totale. Usare acqua altamente purificata che soddisfa alle specifiche seguenti:

- conduttività: non superiore a $1,0 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 25°C ,
- carbonio organico totale: non superiore a 0,1 mg/l.

A seconda del tipo di apparecchio usato il contenuto di metalli pesanti e di rame può essere critico. È necessario seguire le istruzioni del produttore.

Preparazione della vetreria. Usare vetreria che è stata scrupolosamente lavata con un metodo che rimuove il materiale organico. Per il lavaggio finale della vetreria usare *acqua per la determinazione del carbonio organico totale*.

Soluzione standard. Disciogliere il saccarosio R, essiccato a 105°C per 3 h, in *acqua per la determinazione del carbonio organico totale* in modo da ottenere una soluzione contenente 1,19 mg di saccarosio per litro (0,50 mg di carbonio per litro).

Soluzione in esame. Raccogliere l'acqua in esame in un recipiente ermeticamente chiuso lasciando il minimo spazio vuoto ed usando tutte le precauzioni per evitare la contaminazione. Esaminare l'acqua nel più breve tempo possibile per ridurre la contaminazione dovuta al recipiente e alla sua chiusura.

Soluzione per la verifica dell'idoneità del sistema. Disciogliere 1,4-benzochinone R in *acqua per la determinazione del carbonio organico totale* in modo da ottenere una soluzione avente una concentrazione di 0,75 mg di 1,4-benzochinone per litro (0,50 mg di carbonio per litro).

Acqua per la determinazione del carbonio organico totale di controllo. Usare *acqua per la determinazione del carbonio organico totale* ottenuta nello stesso modo di quella usata per preparare la soluzione standard e la soluzione per l'idoneità del sistema.

Soluzioni di controllo. Oltre all'*acqua per la determinazione del carbonio organico totale di controllo* preparare appropriate soluzioni di bianco o altre soluzioni necessarie per stabilire la linea di base o per l'aggiustamento della calibrazione seguendo le istruzioni del produttore; far correre i bianchi appropriati per azzerare lo strumento.

Idoneità del sistema. Esaminare le seguenti soluzioni e registrare le risposte: *acqua per la determinazione del carbonio organico totale* (r_w); *soluzione standard* (r_s);

soluzione per la verifica dell'idoneità del sistema (r_{ss}). Calcolare l'efficienza della risposta, come percentuale, usando l'espressione:

$$\frac{r_{ss} - r_w}{r_s - r_w} \times 100$$

Il sistema è idoneo se l'efficienza della risposta non è inferiore all'85 per cento e non è superiore al 115 per cento della risposta teorica.

Procedura. Far correre la soluzione in esame e registrare la risposta (r_u). La soluzione in esame soddisfa al saggio se r_u non è superiore a $r_s - r_w$.

Il metodo può anche essere applicato usando una strumentazione in linea che è stata adeguatamente calibrata e che dimostra di avere un'idoneità del sistema accettabile. La posizione della strumentazione deve essere scelta in modo da assicurare che le risposte siano rappresentative dell'acqua usata.

2.2.45. CROMATOGRAFIA A FLUIDO SUPERCRITICO

La cromatografia a fluido supercritico (SFC) è un metodo di separazione cromatografica nel quale la fase mobile è un fluido in una fase supercritica o subcritica. La fase stazionaria, contenuta in una colonna, può essere costituita da particelle solide finemente suddivise, come silice o grafite porosa, o essere una fase chimicamente modificata, come quella usata in cromatografia liquida, o, per le colonne capillari, può essere un film liquido reticolato uniformemente distribuito sulle pareti della colonna.

La cromatografia a fluido supercritico è basata su meccanismi di adsorbimento o di distribuzione di massa.

APPARECCHIATURA

L'apparecchiatura è generalmente costituito da: un sistema di pompaggio raffreddato, un iniettore, una colonna cromatografica contenuta in un forno, un rivelatore, un regolatore di pressione ed un dispositivo per l'acquisizione di dati (un integratore o un registratore a carta).

Sistema di pompaggio

I sistemi di pompaggio debbono imprimere alla fase mobile una velocità di flusso costante. Debbono essere minimizzate le fluttuazioni di pressione, per es., facendo passare il solvente pressurizzato attraverso un dispositivo a smorzamento di impulsi. Le tubature e le connessioni devono essere in grado di resistere alle pressioni sviluppate dal sistema di pompaggio.

I sistemi controllati da un microprocessore devono essere in grado di far muovere la fase mobile sia in condizioni costanti che variabili secondo un programma definito. Nel caso di eluizione in gradiente sono disponibili sistemi di pompaggio che prelevano solvente(i) da più contenitori; la miscelazione dei solventi può essere effettuata sia prima (bassa pressione) che dopo (alta pressione) della(e) pompa(e).

Iniettori

L'introduzione del campione può essere effettuata direttamente in testa alla colonna per mezzo di una valvola.

Fasi stazionarie

Le fasi stazionarie sono contenute in colonne dello stesso tipo di quelle descritte nei capitoli *Cromatografia liquida* (2.2.29) (colonne impaccate) e *Gas cromatografia* (2.2.28) (colonne capillari). Una colonna capillare ha un diametro interno massimo (\varnothing) di 100 μ m.

Fasi mobili

Generalmente la fase mobile è costituita da diossido di carbonio (anidride carbonica) che può contenere un modificatore polare come metanolo, 2-propanolo o acetone. La composizione, la pressione (densità), la temperatura e la velocità di flusso della fase mobile prescritta possono essere costanti per l'intera procedura cromatografica (eluizione isocratica, isobara, isoterica) o possono variare secondo un programma definito (gradiente di eluizione del modificatore, della pressione (densità), della temperatura o della velocità di flusso).

Rivelatori

I rivelatori più comunemente usati sono gli spettrofotometri nell'ultravioletto/visibile (UV/Vis) e rivelatori a ionizzazione di fiamma. Possono essere usati rivelatori a diffusione della luce, spettrofotometri di assorbimento nell'infrarosso, rivelatori a conduttività termica ed altri rivelatori particolari.

METODO

Preparare la(le) soluzione(i) in esame e la(le) soluzione(i) di riferimento come prescritto. Le soluzioni devono essere esenti da particelle solide.

I criteri per la valutazione dell'idoneità del sistema sono descritti nel capitolo *Tecniche di separazione cromatografica* (2.2.46). In questo capitolo sono anche riportati i limiti entro i quali è possibile far variare i diversi parametri e soddisfare egualmente ai criteri dell'idoneità del sistema.

2.2.46. TECNICHE DI SEPARAZIONE CROMATOGRAFICA

Le tecniche di separazione cromatografica sono metodi di separazione sequenziali basati sulla distribuzione dei componenti di un campione tra due fasi, una stazionaria e l'altra mobile. La fase stazionaria può essere un solido o un liquido depositato su un supporto solido o un gel; essa può essere impaccata in una colonna, distribuita a formare uno strato o depositata come un film ecc. La fase mobile può essere gassosa, liquida o un fluido supercritico. La separazione può essere basata su fenomeni quali l'adsorbimento, la distribuzione di massa (ripartizione), lo scambio ionico, ecc. o su differenze di proprietà fisico-chimiche delle molecole come la massa, il volume, le dimensioni ecc.

Questo capitolo contiene le definizioni ed i metodi di calcolo dei parametri comuni a queste tecniche ed i requisiti applicabili in modo generale per l'idoneità del sistema. I principi di separazione, le apparecchiature ed i metodi sono riportati nei seguenti metodi generali:

- Cromatografia su carta (2.2.26)
- Cromatografia su strato sottile (2.2.27)
- Gas cromatografia (2.2.28)
- Cromatografia liquida (2.2.29)
- Cromatografia di esclusione (2.2.30)
- Cromatografia a fluido supercritico (2.2.45)

DEFINIZIONI

Le definizioni seguenti sono state usate per calcolare i limiti riportati nelle monografie.

Con alcuni strumenti certi parametri, come il rapporto segnale-rumore, possono essere calcolati mediante un algoritmo fornito dal produttore. È responsabilità dell'utilizzatore assicurare che i metodi di calcolo usati nel software siano compatibili con i requisiti della Farmacopea. Se questo non si verifica, devono essere apportate le correzioni necessarie.

Cromatogramma

Un cromatogramma è un grafico o un'altra rappresentazione della risposta del rivelatore, della concentrazione dell'eluato o un'altra quantità usata come misura della concentrazione dell'eluato, rispetto al tempo, al volume o alla distanza. I cromatogrammi ideali sono rappresentati da una sequenza di picchi gaussiani su una linea di base.

DATI DI RITENZIONE

Tempo di ritenzione e volume di ritenzione

In cromatografia di eluizione le misure di ritenzione possono essere riportate come tempo di ritenzione (t_R), direttamente definito dalla posizione del massimo del picco nel cromatogramma. Dal tempo di ritenzione può essere calcolato il volume di ritenzione (V_R).

$$V_R = t_R v$$

t_R = tempo di ritenzione o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente al componente considerato,

v = velocità di flusso della fase mobile.

Rapporto di distribuzione di massa

Il rapporto di distribuzione di massa (D_m) (detto anche fattore di capacità k' o fattore di ritenzione k) è definito come:

$$D_m = \frac{\text{quantità di soluto nella fase stazionaria}}{\text{quantità di soluto nella fase mobile}} = K_C \frac{V_S}{V_M}$$

K_C = coefficiente di distribuzione all'equilibrio (noto anche come costante di distribuzione),

V_S = volume della fase stazionaria,

V_M = volume della fase mobile.

Il rapporto di distribuzione di massa di un componente può essere determinato dal cromatogramma usando l'espressione:

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

t_R = tempo (o volume) di ritenzione o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente al componente considerato,

t_M = tempo (o volume) di ritardo: tempo (o volume) o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente ad un componente non trattenuto.

Coefficiente di distribuzione

Nella cromatografia di esclusione le caratteristiche di eluizione di un componente in una particolare colonna possono essere descritte dal coefficiente di distribuzione (K_0), che è calcolato mediante l'espressione:

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

t_R = tempo (o volume) di ritenzione o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente al componente considerato,

t_0 = tempo (o volume) di ritardo o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente ad un componente non trattenuto,

t_i = tempo (o volume) di ritenzione o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente ad un componente che può entrare all'interno di tutti i pori della fase stazionaria.

Fattore di ritardo

In cromatografia planare il fattore di ritardo R_F (anche noto come fattore di ritenzione R_f) è il rapporto tra la distanza dal punto di applicazione al centro della macchia e la distanza percorsa dal fronte del solvente a partire dal punto di applicazione:

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

b = distanza di migrazione dell'analita,

a = distanza di migrazione del fronte del solvente.

DATI CROMATOGRAFICI

Il picco può essere definito dall'area del picco (A) o dall'altezza del picco (h) e la larghezza del picco a metà altezza (w_h) o dall'altezza del picco (h) e la larghezza del picco tra i punti di flesso (w_i). Nel caso di picchi gaussiani (Figura 2.2.46.-1) vale la relazione:

$$w_h = 1,18 w_i$$

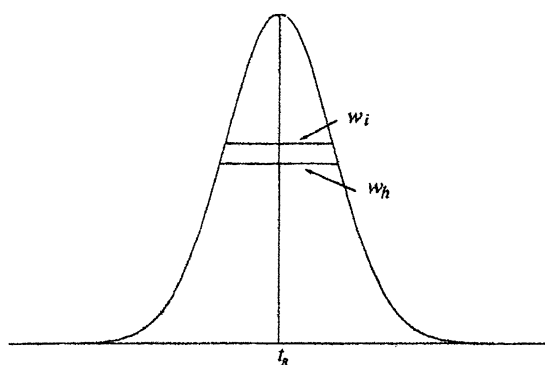


Figura 2.2.46.-1.

Fattore di simmetria

Il fattore di simmetria (A_s) (o fattore di scodamento) di un picco (Figura 2.2.46.-2) è calcolato mediante l'espressione:

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

$w_{0,05}$ = larghezza del picco ad un ventesimo della sua altezza,

d = distanza tra la perpendicolare tracciata dal massimo del picco e il punto di inizio del picco ad un ventesimo della sua altezza.

Un valore pari ad 1,0 indica la completa (ideale) simmetria.

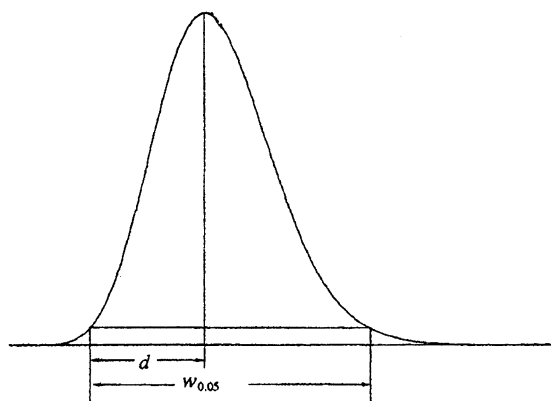


Figura 2.2.46.-2.

Efficienza di una colonna e numero apparente di piatti teorici

L'efficienza di una colonna (efficienza apparente) può essere calcolata dai dati ottenuti in condizioni isoterme, isocratiche o di isodensità, a seconda della tecnica, come numero apparente di piatti teorici (N) mediante l'espressione seguente, dove i valori di t_R e w_h devono essere espressi nelle stesse unità di misura (tempo, volume o distanza).

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

t_R = tempo di ritenzione (o volume) o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente al componente considerato,

w_h = larghezza del picco a metà altezza.

Il numero apparente di piatti teorici varia con il componente, con la colonna e il tempo di ritenzione.

DATI DI SEPARAZIONE

Risoluzione

La risoluzione (R_s) tra picchi di due componenti può essere calcolata mediante l'espressione:

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

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

t_{R1} e t_{R2} = tempi di ritenzione o distanze lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dai massimi di due picchi adiacenti,

w_{h1} e w_{h2} = larghezza dei picchi a metà altezza.

Una risoluzione superiore a 1,5 corrisponde ad una separazione alla linea di base.

L'espressione riportata precedentemente non può essere applicata se i picchi non sono separati alla base.

In cromatografia planare quantitativa le distanze di migrazione sono usate al posto dei tempi di ritenzione e la risoluzione può essere calcolata mediante l'espressione:

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

R_{F1} e R_{F2} = rapporti tra le distanze dal punto di applicazione ai centri delle macchie e la distanza percorsa dal fronte del solvente a partire dal punto di applicazione (fattore di ritardo),

w_{h1} e w_{h2} = larghezza dei picchi a metà altezza,

a = distanza di migrazione del fronte del solvente.

Rapporto picco/valle

Il rapporto picco/valle (p/v) può essere impiegato come criterio di idoneità del sistema in un saggio per le sostanze correlate quando tra due picchi non viene raggiunta la separazione alla base (Figura 2.2.46.-3).

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

H_p = altezza al di sopra della linea di base, del picco minore,

H_v = altezza al di sopra della linea di base estrapolata in corrispondenza del punto più basso della curva che separa il picco minore dal picco maggiore.

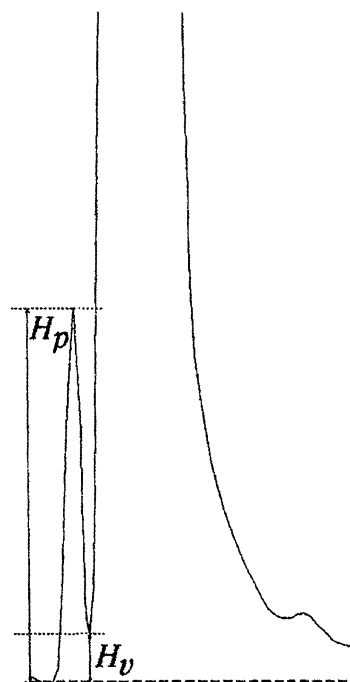


Figura 2.2.46.-3.

Ritenzione relativa

La ritenzione relativa (r) è una stima calcolata mediante l'espressione:

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

t_{R2} = tempo di ritenzione del picco considerato,

t_{R1} = tempo di ritenzione del picco di riferimento (generalmente il picco corrispondente alla sostanza in esame),

t_M = tempo di ritardo: tempo o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente ad un componente non trattenuto.

La ritenzione relativa non corretta (r_G) viene calcolata con l'espressione:

$$r_G = \frac{t_{R2}}{t_{R1}}$$

Se non altrimenti indicato, i valori per la ritenzione relativa riportati nelle monografie corrispondono alla ritenzione relativa non corretta.

Nella cromatografia planare i fattori di ritardo R_{F2} e R_{F1} sono usati in luogo di t_{R2} e t_{R1} .

PRECISIONE DELLA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Rapporto segnale/rumore

Il rapporto segnale/rumore (S/R) influenza la precisione della determinazione quantitativa ed è calcolato mediante l'equazione:

$$S/R = \frac{2H}{h}$$

H = altezza del picco (Figura 2.2.46.-4) corrispondente al componente considerato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento prescritta, misurata dal massimo del picco alla linea di base estrapolata considerando il segnale osservato su una distanza pari a venti volte la larghezza a metà altezza,

h = intervallo del rumore di fondo in un cromatogramma ottenuto dopo l'iniezione o l'applicazione di un bianco, osservato su una distanza pari a venti volte la larghezza a metà altezza del picco nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento prescritta e, se possibile, disposta simmetricamente intorno alla posizione in cui dovrebbe essere riscontrato il picco.

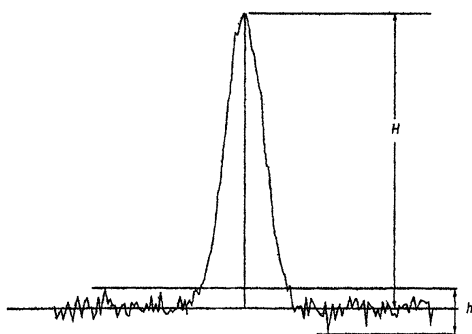


Figura 2.2.46.-4.

Ripetibilità

La ripetibilità della risposta è espressa come deviazione standard relativa misurata in percentuale ($DSR_{\%}$) di una serie consecutiva di misure effettuate mediante iniezioni o applicazioni di una soluzione di riferimento ed è calcolata mediante l'espressione:

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

y_i = valori singoli espressi come area del picco, altezza del picco, o rapporto tra le aree con il metodo della standardizzazione interna,

\bar{y} = media dei valori singoli,

n = numero dei valori singoli.

La deviazione standard relativa massima permessa (DSR_{max}) è calcolata, per una serie di iniezioni della soluzione di riferimento in funzione dei limiti di specifica predefiniti, mediante la seguente espressione:

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

K = costante (0,349) ottenuta dall'espressione

$$K = \frac{0,6}{\sqrt{2}} \times \frac{t_{90\%,5}}{\sqrt{6}}$$

nella quale $\frac{0,6}{\sqrt{2}}$ rappresenta la DSR richiesta dopo 6 iniezioni per $B = 1,0$,

B = limite superiore dato nella definizione della singola monografia meno il 100 per cento,

n = numero di iniezioni ripetute della soluzione di riferimento ($3 \leq n \leq 6$),

$t_{90\%,n-1}$ = t di Student al 90 per cento di probabilità (a due code) con $n-1$ gradi di libertà.

IDONEITÀ DEL SISTEMA

I saggi di idoneità del sistema fanno parte integrante del metodo e vengono usati per garantire che le prestazioni del sistema cromatografico siano adeguate. I parametri generalmente utilizzati per valutare la prestazione della colonna sono l'efficienza apparente, il rapporto di distribuzione di massa, la risoluzione, la ritenzione relativa ed il fattore di simmetria. I fattori che possono influenzare il comportamento cromatografico sono la composizione, la forza ionica, la temperatura ed il pH apparente della fase mobile, la velocità di flusso, la lunghezza della colonna, la temperatura, la pressione, le caratteristiche della fase stazionaria quali la porosità, le dimensioni ed il tipo delle particelle, l'area superficiale specifica e, nel caso di supporti in fase inversa, l'entità delle modifiche chimiche (come modifiche superficiali finali (end-capping), carica di carbonio, ecc.).

I diversi componenti della strumentazione impiegata devono essere qualificati e in grado di ottenere la precisione richiesta per la realizzazione del saggio o della determinazione considerata.

I seguenti requisiti devono essere comunque rispettati, salvo diversa indicazione nella monografia.

- Il fattore di simmetria del picco principale deve essere compreso tra 0,8 e 1,5 salvo indicazione diversa nella monografia. Questo requisito ha applicabilità generale per i saggi e per le determinazioni descritte nelle monografie.

- La massima deviazione standard relativa permessa per una serie di iniezioni ripetute della soluzione di riferimento prescritta, non deve superare i valori riportati nella tabella 2.2.46.-1. Questo

requisito si applica solo alle determinazioni quantitative e non si applica al saggio delle sostanze correlate.

- Il limite di rilevazione del picco (corrispondente ad un rapporto segnale/rumore di 3) è inferiore al limite di esclusione (reporting-threshold) del saggio delle sostanze correlate.
- Il limite di determinazione quantitativa del picco (corrispondente ad un rapporto segnale/rumore di 10) è inferiore o uguale al limite di esclusione (reporting-threshold) del saggio delle sostanze correlate.

Tabella 2.2.46.-1. *Requisiti di ripetibilità*

B (per cento)	Numero di iniezioni singole			
	3	4	5	6
	Massima deviazione standard relativa permessa			
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

AGGIUSTAMENTO DELLE CONDIZIONI CROMATOGRAFICHE

Vengono riportati qui di seguito, per informazione, i limiti entro i quali è possibile far variare i diversi parametri di un saggio cromatografico in modo da soddisfare ai criteri di idoneità del sistema senza modificare fondamentalmente il metodo stesso. Le condizioni cromatografiche descritte sono state convalidate durante l'elaborazione della monografia. I saggi di idoneità del sistema sono inclusi per assicurare che venga ottenuta la separazione richiesta per un'esecuzione soddisfacente del saggio o della determinazione quantitativa. Tuttavia, possono essere necessari alcuni aggiustamenti delle condizioni cromatografiche affinché il sistema risponda ai requisiti di conformità specificati, in quanto le fasi stazionarie sono descritte in modo generale e sono in commercio in grande varietà, con differenze nel loro comportamento cromatografico. Con i metodi di cromatografia liquida in fase inversa, in particolare, non sempre gli aggiustamenti dei diversi parametri danno luogo ad una cromatografia soddisfacente. In questo caso, può essere necessario cambiare la colonna con un'altra dello stesso tipo (per es. gel di silice ottadecilsililato) avente il comportamento cromatografico desiderato.

Nel caso di parametri critici gli aggiustamenti che permettono di assicurare l'idoneità del sistema sono chiaramente definiti nella monografia.

Si devono evitare gli aggiustamenti multipli che possono avere un effetto cumulativo sull'efficienza del sistema.

Cromatografia su strato sottile e cromatografia su carta.

Composizione della fase mobile: la quantità del componente minore può essere variata del ± 30 per cento in termini relativi o del ± 2 per cento in termini assoluti, (considerare il valore più elevato tra i due). Nel caso di un componente minoritario che rappresenta il 10 per cento della fase mobile, un aggiustamento del 30 per cento in termini relativi consente un intervallo compreso tra il 7 e il 13 per cento mentre un aggiustamento del 2 per cento in termini assoluti consente un intervallo compreso tra l'8 e il 12 per cento, in questo caso il valore relativo è il più grande; nel caso di un componente minoritario che rappresenta il 5 per cento della fase mobile, un aggiustamento del 30 per cento in termini relativi permette un intervallo compreso tra il 3,5 e il 6,5 per cento, mentre un aggiustamento del 2 per cento in termini assoluti permette un intervallo compreso tra il 3 e il 7 per cento, in questo caso il valore assoluto è il più grande. Nessun altro componente può essere variato per più del 10 per cento in termini assoluti.

pH del componente acquoso della fase mobile: $\pm 0,2$ unità di pH se non diversamente indicato nella monografia, o $\pm 1,0$ unità di pH quando si esaminano sostanze neutre.

Concentrazione dei sali nel tampone componente di una fase mobile: ± 10 per cento.

Volume da depositare: 10 – 20 per cento del volume prescritto se si usano lastre con particelle aventi dimensioni fini (2-10 μm).

Distanza di migrazione del fronte del solvente: non deve essere inferiore a 50 mm o a 30 mm su lastre ad alta efficienza.

Cromatografia liquida

Composizione della fase mobile: la quantità del componente minore può essere variata del ± 30 per cento in termini relativi o del ± 2 per cento in termini assoluti, considerando il valore più elevato tra i due (vedi esempio precedente). Nessun altro componente può essere variato per più del 10 per cento in termini assoluti.

pH del componente acquoso della fase mobile: $\pm 0,2$ unità di pH se non diversamente indicato nella monografia, o $\pm 1,0$ unità di pH quando si esaminano sostanze neutre.

Concentrazione dei sali nel tampone componente di una fase mobile: ± 10 per cento.

Lunghezza d'onda del rivelatore: non sono ammessi aggiustamenti.

Fase stazionaria:

- *lunghezza della colonna:* ± 70 per cento,
- *diametro interno della colonna:* ± 25 per cento,
- *dimensione delle particelle:* riduzione massima del 50 per cento, non è ammesso alcun aumento.

Velocità di flusso: ± 50 per cento. Quando in una monografia viene indicato il tempo di ritenzione del picco principale, la velocità di flusso deve essere modificata qualora siano stati variati la lunghezza della colonna o il suo diametro interno. Non è permessa una diminuzione della velocità di flusso quando la monografia fa uso del numero apparente di piatti teorici nella sezione di qualificazione.

Temperatura: ± 10 per cento, fino ad un massimo di 60 °C.

Volume di iniezione: può essere diminuito, purché la rivelazione e la ripetibilità del picco/picchi da determinare siano soddisfacenti.

Gradiente di eluizione: la configurazione dell'apparecchiatura usata può modificare significativamente la risoluzione, il tempo di ritenzione e le ritenzioni relative descritte nel metodo. Ciò può essere dovuto ad un eccessivo volume morto (dwell volume) che è il volume tra l'estremità della colonna e il punto nel quale i due eluenti si incontrano.

Gas cromatografia

Fase stazionaria:

- *lunghezza della colonna:* ± 70 per cento,
- *diametro interno della colonna:* ± 50 per cento,
- *dimensione della particelle:* riduzione massima del 50 per cento, non è permesso alcun aumento,
- *spessore del film:* da - 50 per cento a + 100 per cento.

Velocità di flusso: ± 50 per cento.

Temperatura: ± 10 per cento.

Volume di iniezione: può essere diminuito purché la rivelazione e la ripetibilità siano soddisfacenti.

Cromatografia a fluido supercritico

Composizione della fase mobile: nel caso di colonne impaccate, la quantità del componente minore può essere variata del ± 30 per cento in termini relativi o del ± 2 per cento in termini assoluti: considerare il valore più elevato tra i due. Non è permesso alcun aggiustamento per un sistema con una colonna capillare.

Lunghezza d'onda del rivelatore: non è permesso alcun aggiustamento.

Fase stazionaria:

- *lunghezza della colonna:* ± 70 per cento,
- *diametro interno della colonna:* ± 25 per cento (colonne impaccate), ± 50 per cento (colonne capillari),

– *dimensione delle particelle:* riduzione massima del 50 per cento, non è ammesso alcun aumento (colonne impaccate).

Velocità di flusso: ± 50 per cento.

Temperatura: ± 10 per cento.

Volume di iniezione: può essere diminuito purché la rivelazione e la ripetibilità siano soddisfacenti.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Risposta del rivelatore. La sensibilità del rivelatore è l'intensità del segnale emesso per unità di concentrazione o unità di massa di una sostanza nella fase mobile che entra nel rivelatore. Il fattore di risposta relativo del rivelatore, comunemente indicato *fattore di risposta*, esprime la sensibilità del rivelatore rispetto ad una sostanza di riferimento. Il *fattore di correzione* è il reciproco del fattore di risposta.

Metodo dello standard esterno. La concentrazione del componente(i) da analizzare si determina confrontando la risposta(e) (picco/chi) ottenuta(e) con la soluzione in esame con la risposta(e) (picco/chi) ottenuta(e) con la soluzione di riferimento.

Metodo dello standard interno. Un componente che viene ben separato dalla sostanza in esame (standard interno) è aggiunto in quantità uguali nella soluzione in esame e nella soluzione di riferimento. Lo standard interno dovrebbe non reagire con la sostanza che deve essere esaminata; deve essere stabile e non deve contenere impurezze con tempo di ritenzione simile a quello della sostanza in esame. La concentrazione della sostanza in esame si determina confrontando il rapporto tra l'area, o le altezze, dei picchi dovuti alla sostanza in esame e allo standard interno nella soluzione in esame, con il rapporto tra le aree, o le altezze, dovuti alla sostanza in esame e allo standard interno nella soluzione di riferimento.

Procedura di normalizzazione. Il contenuto percentuale di uno o più componenti della sostanza in esame è calcolato determinando l'area del picco o dei picchi come una percentuale dell'area totale di tutti i picchi, escludendo quelli dovuti ai solventi o a qualsiasi reattivo aggiunto e quelli al di sotto del limite di esclusione.

Procedura di calibrazione. Determinare la relazione tra il segnale misurato o quello stimato (y) e la quantità (concentrazione, massa, ecc.) della sostanza (x) e calcolare la funzione di calibrazione. I risultati analitici sono calcolati dal segnale misurato o dal segnale stimato dell'analita mediante la funzione inversa.

Per i dosaggi e la determinazione quantitativa dei componenti possono essere descritti nella monografia il metodo dello standard esterno, il metodo dello standard interno o la procedura di calibrazione; generalmente non si

applica la procedura di normalizzazione. Nei saggi per le sostanze correlate si applicano generalmente il metodo dello standard esterno con una sola soluzione di riferimento o la procedura di normalizzazione. Comunque, quando per il confronto, sia con la procedura di normalizzazione che con il metodo dello standard esterno, si usa una diluizione della soluzione in esame, i risultati relativi alle sostanze correlate sono simili a quelli della sostanza stessa (fattore di risposta da 0,8 a 1,2); in caso contrario il testo include i fattori di correzione.

Quando il saggio delle sostanze correlate prescrive la somma delle impurezze o la determinazione quantitativa di una impurezza, è importante scegliere un appropriato parametro soglia e appropriate condizioni per l'integrazione delle aree dei picchi. In questi saggi il *limite di esclusione* e cioè l'area al di sotto della quale i picchi non sono presi in considerazione, è generalmente dello 0,05 per cento. Quindi il limite soglia di un sistema di raccolta dei dati corrisponde, al massimo, a metà del limite di esclusione. L'integrazione dell'area dei picchi delle impurezze che non sono completamente separate dal picco principale, viene effettuata, preferibilmente, mediante estrapolazione da «valle a valle» (livellamento tangenziale). Anche i picchi dovuti al solvente(i) usato(i) per disciogliere il campione non devono essere presi in considerazione.

2.2.47. ELETTROFORESI CAPILLARE

PRINCIPI GENERALI

L'elettroforesi capillare è un metodo di analisi fisico basato sulla migrazione, all'interno di un capillare e sotto l'influenza di un campo elettrico a corrente continua, di analiti carichi disciolti in una soluzione elettrolitica.

La velocità di migrazione di un analita in un campo elettrico di intensità E è determinata dalla mobilità elettroforetica dell'analita e dalla mobilità elettro-osmotica del tampone all'interno del capillare. La mobilità elettroforetica di un soluto (μ_{ep}) dipende dalle caratteristiche del soluto (carica elettrica, dimensioni molecolari e forma) e da quelle del tampone nel quale si verifica la migrazione (tipo e forza ionica dell'elettrolita, pH, viscosità ed additivi). La velocità elettroforetica (v_{ep}) di un soluto, assumendo una forma sferica, è data dall'equazione:

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

- q = carica effettiva del soluto,
- η = viscosità della soluzione elettrolitica,
- r = raggio di Stoke del soluto,
- V = voltaggio applicato,
- L = lunghezza totale del capillare.

Quando lungo il capillare, riempito con il tampone, viene applicato un campo elettrico, all'interno del capillare si genera un flusso di solvente, detto flusso elettro-osmotico. La velocità del flusso elettro-osmotico dipende dalla mobilità elettro-osmotica (μ_{eo}), che a sua volta dipende dalla densità di carica sulla parete interna del capillare e dalle caratteristiche del campione. La velocità elettro-osmotica (v_{eo}) è data dall'equazione:

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

- ε = costante dielettrica del tampone,
- ζ = potenziale zeta della superficie del capillare.

La mobilità elettroforetica e la mobilità elettro-osmotica dell'analita possono agire nella stessa direzione in direzioni opposte a seconda della carica (positiva o negativa) del soluto in modo che la velocità del soluto (v) è data da:

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

Si usa la somma o la differenza tra i due termini a seconda che le mobilità agiscano nella stessa direzione o in direzioni opposte. Nel caso in cui la velocità elettro-osmotica è più elevata della velocità elettroforetica dei soluti, nella stessa corsa, possono essere separati sia gli elettroliti carichi positivamente che quelli carichi negativamente.

Il tempo (t) necessario al soluto per percorrere la distanza (l) dall'estremità di iniezione del capillare al punto di rivelazione (lunghezza effettiva del capillare) è dato dall'espressione:

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

La maggior parte dei capillari di silice fusa usati in elettroforesi hanno delle cariche negative sulla parete interna che producono un flusso elettro-osmotico verso il catodo. Il flusso elettro-osmotico deve rimanere costante da corsa a corsa quando si deve ottenere una buona riproducibilità nella velocità di migrazione dei soluti. In alcune applicazioni, può essere necessario ridurre o eliminare il flusso elettro-osmotico modificando la parete interna del capillare o cambiando il pH della soluzione tampone.

Dopo l'introduzione del campione nel capillare, ogni ione analita del campione migra nel mezzo elettrolitico come zona indipendente, in funzione della sua mobilità elettroforetica. La zona di dispersione, cioè la diffusione di ciascuna banda di soluto, è il risultato di diversi fenomeni. In condizioni ideali il solo contributo all'allargamento della zona del soluto è la diffusione moleco-

lare del soluto lungo il capillare (diffusione longitudinale). In questo caso ideale l'efficienza della zona, espressa come il numero dei piatti teorici (N), è data da:

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

D = coefficiente di diffusione molecolare del soluto nel tampone.

Nella pratica, altri fenomeni come la dissipazione del calore, l'adsorbimento del campione sulla parete del capillare, la differenza di conduttività tra il campione e il tampone, la lunghezza del cilindro di campione iniettato, le dimensioni della cella del rivelatore e i recipienti del tampone non posizionati allo stesso livello possono anche contribuire significativamente alla dispersione della banda.

La separazione tra due bande (espressa come risoluzione R_s) può essere ottenuta modificando la mobilità elettroforetica degli analiti, la mobilità elettro-osmotica indotta nel capillare e aumentando l'efficienza per la banda di ciascun analita, secondo l'equazione:

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

μ_{epa} e μ_{epb} = mobilità elettroforetica dei due analiti separati,

$\bar{\mu}_{ep}$ = mobilità elettroforetica media dei due analiti ($\bar{\mu}_{ep} = \frac{1}{2}(\mu_{epb} + \mu_{epa})$).

APPARECCHIO

Un apparecchio per elettroforesi capillare è composto da:

- un alimentatore a corrente continua ad alto voltaggio regolabile,
- due recipienti per il tampone, mantenuti allo stesso livello, contenenti le prescritte soluzioni anodica e catodica,
- due elettrodi (il catodo e l'anodo) immersi nei contenitori del tampone e connessi all'alimentatore,
- un capillare di separazione (generalmente di silice fusa) che, quando usato con alcuni specifici tipi di rivelatore, ha una finestra ottica allineata con il rivelatore. Le estremità del capillare pescano nei recipienti del tampone. Il capillare è riempito con la soluzione prescritta nella monografia,
- un sistema di iniezione appropriato,
- un rivelatore in grado di controllare la quantità delle sostanze di interesse che passano attraverso un segmento del capillare di separazione in un tempo determinato. Il metodo di rivelazione è generalmente basato sulla spettrofotometria di assorbimento (UV e visibile) o sulla fluorimetria. La rivelazione conduttivimetrica, amperometrica o mediante

spettrometria di massa può essere utile per applicazioni specifiche. La rivelazione indiretta è un metodo alternativo usato per rivelare composti che non assorbono nell'UV o che non sono fluorescenti,

- un sistema termostatico in grado di mantenere una temperatura costante all'interno del capillare. Si raccomanda l'uso di un tale sistema in modo da ottenere una buona riproducibilità della separazione,
- un registratore e un appropriato integratore o un computer.

La definizione del processo di iniezione e la sua automazione sono critiche per un'analisi quantitativa precisa. I modi di iniezione comprendono la gravità, la pressione o l'iniezione sotto vuoto e l'iniezione elettrocinetica. Nel caso dell'iniezione elettrocinetica ciascun componente del campione è introdotto nel capillare in quantità variabile che dipende dalla sua mobilità elettroforetica, cosa che porta ad una possibile discriminazione.

Usare il capillare, le soluzioni tampone, il metodo di preconditionamento, la soluzione campione e le condizioni di migrazione prescritte nella monografia della sostanza considerata. La soluzione elettrolitica impiegata è filtrata per rimuovere le particelle e degassata per evitare la formazione di bolle che potrebbero interferire con il sistema di rivelazione o interrompere il contatto elettrico nel capillare durante la separazione. Per ciascun metodo analitico deve essere sviluppata una rigorosa procedura di lavaggio in modo da ottenere, per i soluti, tempi di migrazione riproducibili.

ELETTROFORESI CAPILLARE LIBERA

PRINCIPIO

Nell'elettroforesi capillare libera, gli analiti sono separati in un capillare contenente solo il tampone senza alcun mezzo anticonvettivo. Con questa tecnica la separazione si realizza perché i differenti componenti del campione migrano come bande separate con velocità differenti. La velocità di ciascuna banda dipende dalla mobilità elettroforetica del soluto e dal flusso elettroosmotico nel capillare (vedere *Principi generali*). Si possono usare capillari rivestiti per aumentare la capacità di separazione per quelle sostanze che sono adsorbite sulle superfici di silice fusa.

Usando questo tipo di elettroforesi capillare si può realizzare l'analisi di molecole piccole ($M_r < 2000$) e di molecole più grandi ($2000 < M_r < 100000$). In virtù dell'alta efficienza ottenuta nella elettroforesi capillare libera, si può effettuare la separazione di molecole che hanno solo piccolissime differenze nel loro rapporto

tra carica e massa. Questo tipo di separazione consente anche la separazione di composti chirali mediante l'aggiunta di selettori chirali nel tampone di separazione.

OTTIMIZZAZIONE

L'ottimizzazione della separazione è un processo complesso in cui possono giocare un ruolo importante parecchi parametri della separazione. I fattori principali da considerare nello sviluppo della separazione sono i parametri della strumentazione e della soluzione elettrolitica.

Parametri della strumentazione

Voltaggio. Il tempo di separazione è inversamente proporzionale al voltaggio applicato. Tuttavia un aumento del voltaggio impiegato può causare un'eccessiva produzione di calore con un aumento della temperatura e, come risultato di questo, la formazione di gradienti di viscosità nel tampone all'interno del capillare. Questo fenomeno provoca l'allargamento della banda e la diminuzione della risoluzione.

Temperatura. L'effetto principale della temperatura si osserva sulla viscosità del tampone e sulla conduttività elettrica e, quindi, sulla velocità di migrazione. In alcuni casi un aumento della temperatura del capillare può causare un cambiamento conformazionale delle proteine, modificando il loro tempo di migrazione e l'efficienza della separazione.

Capillare. Le dimensioni del capillare (lunghezza e diametro interno) contribuiscono alla durata della analisi, all'efficienza delle separazioni e alla capacità di carico. Aumentando sia la lunghezza effettiva che la lunghezza totale possono diminuire i campi elettrici (lavorando a voltaggio costante) con conseguente aumento del tempo di migrazione. Per un dato tampone e un dato campo elettrico, il calore di dissipazione e, quindi, l'allargamento della banda del campione, dipende dal diametro interno del capillare. Quest'ultimo influenza anche il limite di rivelazione, dipendendo questo dal volume di campione iniettato e dal sistema di rivelazione impiegato.

Poiché l'adsorbimento dei componenti del campione sulle pareti del capillare limita l'efficienza, nello sviluppo di un metodo di separazione dovrebbero essere considerati dei metodi per evitare queste interazioni. Nel caso specifico delle proteine, sono state escogitate alcune strategie per evitare l'adsorbimento sulla parete del capillare. Alcune di queste strategie (l'uso di pH estremi e l'aggiunta al tampone di sostanze cariche positivamente) richiedono, per prevenire l'adsorbimento delle proteine, solo la modifica della composi-

zione del tampone. In altri casi, la parete interna del capillare è rivestita con un polimero, legato covalentemente alla silice, che previene l'interazione tra le proteine e la superficie della silice carica negativamente. A questo scopo sono disponibili capillari pronti all'uso con rivestimenti costituiti da polimeri idrofili neutri, cationici ed anionici.

Parametri della soluzione elettrolitica

Natura e concentrazione del tampone. I tamponi per l'elettroforesi capillare devono avere una capacità tampone appropriata nell'intervallo di pH scelto e una bassa mobilità per minimizzare la generazione di corrente.

È importante ogni volta che è possibile, adattare la mobilità degli ioni del tampone alla mobilità del soluto, per limitare la distorsione della banda. È anche importante il tipo di solvente usato per il campione per ottenere una focalizzazione del campione nella colonna e, quindi, aumentare l'efficienza della separazione e migliorare la rivelazione.

Un aumento della concentrazione del tampone (per un dato pH) provoca la diminuzione del flusso elettro-osmotico e della velocità del soluto.

pH del tampone. Il pH del tampone può influenzare la separazione modificando il flusso elettro-osmotico. Nella separazione di proteine e di peptidi, i cambiamenti del pH del tampone da valori superiori a valori inferiori al punto isoelettrico (pI) modificano la carica netta del soluto da negativa a positiva. Un aumento del pH del tampone provoca generalmente un aumento del flusso elettro-osmotico.

Solventi organici. Modificatori organici (metanolo, acetone, nitrile ecc.) possono essere aggiunti al tampone acquoso per aumentare la solubilità del soluto o di altri additivi e/o per influenzare il grado di ionizzazione dei componenti del campione. L'aggiunta di questi modificatori organici al tampone provoca generalmente una diminuzione del flusso elettro-osmotico.

Additivi per separazioni chirali. Per ottenere la separazione di isomeri ottici si aggiunge al tampone di separazione un selettore chirale. I selettori chirali più comunemente usati sono le ciclodestrine, ma possono essere usati anche eteri corona, polisaccaridi e proteine. Poiché il riconoscimento chirale deriva dalle differenti interazioni tra il selettore chirale e ciascuno degli enantiomeri, la risoluzione raggiunta per i composti chirali dipende fortemente dal tipo di selettore chirale usato. A questo scopo per lo sviluppo di una data separazione può essere utile sottoporre a saggio ciclodestrine con differenti dimensioni della cavità (α -, β -, o γ -ciclode-

strine) o ciclodestrine modificate con gruppi neutri (metile, etile, idrossialchile ecc.) o con gruppi ionizzabili (amminometile, carbossimetile, sulfobutilettere ecc.). Quando si usano ciclodestrine modificate devono essere prese in considerazione le differenze esistenti; tra lotto e lotto, del grado di sostituzione delle ciclodestrine poiché esse influenzeranno la selettività. Altri fattori che controllano la risoluzione nelle separazioni chirali sono la concentrazione del selettore chirale, la composizione e il pH del tampone e la temperatura. L'uso di additivi organici, come il metanolo e l'urea, possono anche modificare la risoluzione ottenibile.

ELETTROFORESI CAPILLARE SU GEL

PRINCIPIO

Nell'elettroforesi capillare su gel, la separazione si verifica nel capillare riempito con un gel che agisce come un setaccio molecolare. In questo modo per un dato rapporto carica/massa, i componenti più piccoli si muovono più velocemente nel capillare di quelli più grandi. L'elettroforesi capillare su gel può essere usata per la separazione di macromolecole biologiche (proteine e frammenti di DNA) a seconda della loro massa molecolare.

CARATTERISTICHE DEI GEL

Nell'elettroforesi capillare sono usati due tipi di gel: gel chimici e gel fisici. I gel chimici, come la poliacrilammide reticolata, sono preparati all'interno del capillare mediante polimerizzazione dei monomeri. Essi sono generalmente legati alla parete di silice fusa e non possono essere rimossi senza distruggere il capillare. Se i gel sono usati per l'analisi delle proteine, il tampone di separazione contiene generalmente sodio dodecilsolfato e i campioni, prima dell'iniezione, sono denaturati mediante riscaldamento in una miscela di sodio dodecilsolfato e 2-mercaptoetanolo o ditiotretolo. La separazione in gel reticolati può essere ottimizzata modificando il tampone di separazione (come indicato nella sezione elettroforesi capillare libera) e controllando la porosità del gel durante la sua preparazione. Per i gel di poliacrilammide reticolata, la porosità può essere modificata cambiando la concentrazione dell'acrilammide e/o la proporzione dell'agente reticolante. In genere, una diminuzione della porosità del gel provoca una diminuzione della mobilità dei soluti. A causa della rigidità di questi gel può essere usata solo l'iniezione elettrocinetica.

I gel fisici sono polimeri idrofili, come poliacrilammide lineare, derivati della cellulosa, destrani ecc., che pos-

sono essere disciolti in tamponi di separazione acquosi in modo da ottenere un mezzo di separazione che agisce anche da setaccio molecolare. Questi mezzi di separazione sono più semplici da preparare dei polimeri reticolati. Essi possono essere preparati in una fiala e introdotti mediante la pressione in un capillare a parete rivestita (senza flusso elettro-osmotico). La sostituzione del gel prima di ogni iniezione generalmente aumenta la riproducibilità della separazione. La porosità dei gel può essere aumentata usando polimeri a massa molecolare più alta (per una data concentrazione del polimero) o diminuendo la concentrazione del polimero (per un polimero di data massa molecolare). Una diminuzione della porosità del gel provoca una diminuzione della mobilità del soluto per lo stesso tampone. Poiché la dissoluzione di questi polimeri nel tampone produce soluzioni con una bassa viscosità possono essere usate sia la tecnica di iniezione idrodinamica che quella elettrocinetica.

ELETTROFORESI CAPILLARE A FOCALIZZAZIONE ISOELETTRICA

PRINCIPIO

Nella focalizzazione isoelettrica, le molecole migrano sotto l'influenza del campo elettrico, finché esse sono cariche, in un gradiente di pH generato da anfoliti che hanno un ampio intervallo di valori di pI (acidi poliamminocarbosilici), disciolti nel tampone di separazione.

Le tre fasi di base della focalizzazione isoelettrica sono il caricamento, la focalizzazione e la mobilizzazione.

Fase di caricamento. Si possono usare due metodi:

- caricamento in una fase: il campione è mescolato con gli anfoliti ed introdotto nel capillare mediante la pressione o il vuoto;
- caricamento sequenziale: nel capillare sono introdotti, in successione, un tampone di caricamento, gli anfoliti, il campione mescolato con gli anfoliti, di nuovo gli anfoliti ed infine il tampone finale. Il volume del campione deve essere piccolo in modo da non modificare il gradiente di pH.

Fase di focalizzazione. Quando si applica il voltaggio gli anfoliti migrano verso il catodo o verso l'anodo a seconda della loro carica netta, creando un gradiente di pH dall'anodo (pH più basso) al catodo (pH più alto). Durante questa fase i componenti da separare migrano fino a quando essi raggiungono un pH corrispondente al loro punto isoelettrico (pI) e la corrente scende a valori bassissimi.

Fase di mobilizzazione. Le bande dei componenti separati sono forzate ad attraversare il rivelatore. Tre sono i metodi utilizzabili:

- nel primo metodo, la mobilizzazione è realizzata durante la fase di focalizzazione sotto l'effetto del flusso elettro-osmotico; il flusso elettro-osmotico deve essere piccolo per consentire la focalizzazione di tutti i componenti;
- nel secondo metodo, la mobilizzazione si realizza applicando una pressione positiva dopo la fase di focalizzazione;
- nel terzo metodo, la mobilizzazione, dopo la fase di focalizzazione, è ottenuta aggiungendo dei sali al recipiente del catodo o dell'anodo (a seconda della direzione scelta per la mobilizzazione) in modo alterare il pH nel capillare quando si applica il voltaggio. Quando il pH è cambiato, le proteine e gli anfiliti sono mobilizzati nella direzione del recipiente che contiene i sali aggiunti e passano attraverso il rivelatore.

La separazione ottenuta, espressa come ΔpI , dipende dal gradiente di pH (dpH/dx), dal numero di anfiliti che hanno diversi valori di pI, dal coefficiente di diffusione molare (D), dall'intensità del campo elettrico (E) e dalla variazione della mobilità elettroforetica dell'analita con il pH ($-d\mu/dpH$):

$$\Delta pI = 3 \times \sqrt{\frac{D(dpH/dx)}{E(-d\mu/dpH)}}$$

OTTIMIZZAZIONE

I parametri principali da considerare nello sviluppo delle separazioni sono:

Voltaggio. La focalizzazione isoelettrica capillare utilizza nella fase di focalizzazione campi elettrici altissimi, da 300 V/cm a 1000 V/cm.

Capillari. Il flusso elettro-osmotico deve essere ridotto o soppresso a seconda della strategia di mobilizzazione (vedere quanto riportato precedentemente). I capillari rivestiti tendono a ridurre il flusso elettro-osmotico.

Soluzioni. Il recipiente del tampone dell'anodo è riempito con una soluzione a pH inferiore al pI dell'anfolita più acido e il recipiente del catodo è riempito con una soluzione a pH più alto del pI dell'anfolita più basico. Si usano frequentemente l'acido fosforico per l'anodo e il sodio idrossido per il catodo.

L'aggiunta, nella soluzione degli anfiliti, di polimeri come la metilcellulosa tende ad eliminare le forze convettive (se vi sono) e il flusso elettro-osmotico aumen-

tando la viscosità. In commercio sono disponibili anfiliti che comprendono intervalli di pH molto diversi e possono essere mescolati, se necessario, in modo da ottenere un intervallo di pH più grande. Gli intervalli di pH più ampi sono usati per valutare il punto isoelettrico, mentre gli intervalli più stretti sono usati per aumentare l'accuratezza. La calibrazione può essere fatta correlando il tempo di migrazione e il punto isoelettrico di una serie di marcatori proteici.

Durante la fase di focalizzazione la precipitazione delle proteine al loro punto isoelettrico può essere prevenuta, se necessario, aggiungendo ai tamponi sostanze additive come il glicerolo, i tensioattivi, l'urea o i tamponi zwitterionici. Tuttavia, a seconda della concentrazione, l'urea denatura le proteine.

CROMATOGRAFIA ELETTRICINETICA MICELLARE (MEKC)

PRINCIPIO

Nella cromatografia elettrocinetica micellare, la separazione si realizza in una soluzione elettrolitica che contiene un tensioattivo a concentrazione superiore alla concentrazione micellare critica (*cmc*). Le molecole di soluto sono distribuite, in funzione del coefficiente di partizione del soluto, tra il tampone acquoso e la fase pseudo stazionaria costituita dalle micelle. La tecnica può essere quindi considerata come un ibrido tra l'elettroforesi e la cromatografia. È una tecnica che può essere usata per la separazione di soluti neutri e di soluti carichi, mantenendo l'efficienza, la velocità e l'adeguatezza dell'elettroforesi capillare. Uno dei tensioattivi più usati in questa tecnica è il tensioattivo anionico sodio dodecilsolfato, anche se sono usati altri tensioattivi, per esempio quelli cationici come i sali di cetiltrimetilammonio.

Il meccanismo di separazione è il seguente. A pH neutro o alcalino è generato un forte flusso elettro-osmotico che trascina gli ioni del tampone di separazione nella direzione del catodo. Se si usa il sodio dodecilsolfato come tensioattivo, la migrazione elettroforetica della micella anionica avviene nella direzione opposta, verso l'anodo. Come risultato, la velocità di migrazione complessiva delle micelle è rallentata rispetto al flusso globale della soluzione elettrolitica. Nel caso di soluti neutri, poiché l'analita può ripartirsi tra la micella e il tampone acquoso e non ha mobilità elettroforetica, la velocità di migrazione dell'analita dipende solo dal coefficiente di partizione tra la micella e il tampone acquoso. Nell'elettroferogramma, i picchi corrispondenti a ciascun soluto non carico si trovano sempre tra

quello del marcatore del flusso elettro-osmotico e quello della micella (il tempo compreso tra questi due picchi è detto finestra di separazione). Per soluti carichi elettricamente, la velocità di migrazione dipende sia dal coefficiente di partizione del soluto tra le micelle e il tampone acquoso, sia dalla mobilità elettroforetica del soluto in assenza di micelle.

Poiché il meccanismo di separazione nella cromatografia micellare elettrocinetica di soluti neutri o debolmente ionizzati è essenzialmente cromatografico, la migrazione del soluto e la risoluzione possono essere spiegati in termini di fattore di capacità del soluto (k'), anche definito come rapporto di distribuzione di massa (D_m), che è il rapporto tra il numero di moli di soluto nella micella e quello nella fase mobile. Per un composto neutro k' è dato da:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0 \left(1 - \frac{t_R}{t_m}\right)} = K \frac{V_S}{V_M}$$

t_R = tempo di migrazione del soluto,

t_0 = tempo di analisi di un soluto non trattenuto (determinato iniettando un marcatore del flusso elettro-osmotico che non entra nella micella, per es. metanolo),

t_m = tempo di migrazione della micella (misurato iniettando un marcatore della micella come il Sudan III, che migra completamente assorbito nella micella),

K = coefficiente di partizione del soluto,

V_S = volume della fase micellare,

V_M = volume della fase mobile.

Allo stesso modo, la risoluzione tra due soluti che migrano molto vicini (R_s) è data da:

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

N = numero di piatti teorici di uno dei soluti,

α = selettività,

k'_a e k'_b = fattori di capacità rispettivamente dei due soluti.

Equazioni simili, ma non identiche, danno come risultato valori di k' e R_s per soluti carichi elettricamente.

OTTIMIZZAZIONE

I parametri principali da considerare nello sviluppare delle separazioni mediante cromatografia micellare elettrocinetica sono i parametri strumentali e quelli della soluzione elettrolitica.

Parametri della strumentazione

Voltaggio. Il tempo di separazione è inversamente proporzionale al voltaggio applicato. Comunque un aumento del voltaggio può causare un'eccessiva produzione di calore che causa un aumento dei gradienti di temperatura e dei gradienti di viscosità del tampone nella sezione reticolata del capillare. Questo effetto può essere significativo con tamponi ad alta conduttività come quelli contenenti le micelle. Una scarsa dissipazione del calore provoca l'allargamento della banda e la diminuzione della risoluzione.

Temperatura. Le variazioni della temperatura del capillare influenzano il coefficiente di partizione del soluto tra il tampone e le micelle, la concentrazione micellare critica e la viscosità del tampone. Questi parametri contribuiscono al tempo di migrazione dei soluti. L'uso di un buon sistema di raffreddamento migliora la riproducibilità del tempo di migrazione dei soluti.

Capillari. Come nel caso dell'elettroforesi capillare libera, le dimensioni del capillare (lunghezza e diametro interno) contribuiscono al tempo di analisi e all'efficienza delle separazioni. Aumentando sia la lunghezza efficace che la lunghezza totale possono diminuire i campi elettrici (lavorando a voltaggio costante), aumenta il tempo di migrazione e conseguentemente migliora l'efficienza della separazione. Il diametro interno condiziona la dissipazione del calore (per un dato tampone e per un dato campo elettrico) e conseguentemente l'allargamento della banda del campione.

Parametri della soluzione elettrolitica

Natura e concentrazione del tensioattivo. Il tipo di tensioattivo, nello stesso modo della fase stazionaria in cromatografia, influisce sulla risoluzione poiché modifica la selettività della separazione. Anche il log k' di un composto neutro aumenta linearmente con la concentrazione del tensioattivo nella fase mobile. Poiché la risoluzione nella cromatografia elettrocinetica micellare raggiunge un massimo quando k' raggiunge il valore di $\sqrt{t_m/t_0}$, modificando la concentrazione del tensioattivo nella fase mobile cambia la risoluzione ottenuta.

pH del tampone. Benché il pH non modifichi il coefficiente di partizione dei soluti non ionizzati, può modifi-

care il flusso elettro-osmotico in capillari non rivestiti. Una diminuzione del pH del tampone fa diminuire il flusso elettro-osmotico e, quindi, nella cromatografia elettrocinetica micellare, aumenta la risoluzione dei soluti neutri con un tempo di analisi conseguente più lungo.

Solventi organici. Nella cromatografia elettrocinetica micellare, per aumentare la separazione di composti idrofobici, possono essere aggiunti alla soluzione elettrolitica modificatori organici (metanolo, propanolo, acetonitrile ecc.). L'aggiunta di questi modificatori fa generalmente diminuire il tempo di migrazione e la selettività della separazione. Poiché l'aggiunta di modificatori organici influenza la concentrazione micellare critica, si deve avere un certo equilibrio tra la concentrazione del modificatore organico e quella del tensioattivo per evitare l'inibizione o l'alterazione della formazione delle micelle con conseguente assenza di partizione. La dissociazione delle micelle in presenza di un alto contenuto di un solvente organico non sempre significa che la separazione non sarà più possibile; in alcuni casi l'interazione idrofobica tra il monomero del tensioattivo e i soluti neutri forma dei complessi solvofobici che possono essere separati elettroforeticamente.

Additivi per separazioni chirali. Per la separazione di enantiomeri mediante la cromatografia elettrocinetica micellare, un selettore chirale viene incluso nel sistema micellare, sia legato covalentemente al tensioattivo che aggiunto all'elettrolita della separazione micellare. Le micelle che hanno una parte con proprietà di discriminazione chirale comprendono i sali di *N*-dodecanoil-L-amminoacidi, i sali biliari, ecc. La risoluzione chirale può anche essere ottenuta usando discriminanti chirali come le ciclodestrine, aggiunti alle soluzioni elettrolitiche che contengono tensioattivi achirali che formano le micelle.

Altri additivi. Possono essere attuate diverse strategie per modificare la selettività aggiungendo delle sostanze chimiche al tampone. L'aggiunta di alcuni tipi di ciclodestrine al tampone può anche essere usata per ridurre l'interazione di soluti idrofobi con le micelle, aumentando quindi la selettività per questo tipo di composto.

Un altro modo usato per aumentare la selettività delle separazioni in cromatografia elettrocinetica micellare è l'aggiunta di sostanze in grado di modificare le interazioni micelle-soluto mediante adsorbimento in queste ultime. Questi additivi possono essere sia un secondo tensioattivo (ionico o non-ionico) che provoca la formazione di micelle miste, sia cationi metallici che si sciolgono nelle micelle e formano complessi di coordinazione con i soluti.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Le aree dei picchi devono essere divise per il corrispondente tempo di migrazione in modo da ottenere l'area corretta al fine di:

- compensare per lo spostamento del tempo di migrazione da corsa a corsa, in modo da ridurre la variazione della risposta,
- compensare le differenti risposte dei costituenti del campione che hanno tempi di migrazione diversi.

Quando si usa uno standard interno, occorre verificare che nessun picco della sostanza in esame sia mascherato da quello dello standard interno.

CALCOLI

Dai valori ottenuti, calcolare il contenuto del componente o dei componenti in esame. Quando prescritto, il contenuto percentuale di uno o più componenti del campione in esame è calcolato determinando l'area/e corretta/e del/dei picco/chi come percentuale del totale delle aree corrette di tutti i picchi, esclusi quelli dovuti al solvente o a qualsiasi reattivo aggiunto (procedura di normalizzazione). Si raccomanda l'uso di un sistema di integrazione automatico (integratore o sistema di acquisizione e di elaborazione dei dati).

IDONEITÀ DEL SISTEMA

Al fine di verificare il comportamento del sistema di elettroforesi capillare, si usano i parametri dell'idoneità del sistema. La scelta di questi parametri dipende dal tipo di elettroforesi capillare usato. Essi sono: il fattore di capacità (k') (solo per la cromatografia elettrocinetica micellare), il numero apparente di piatti teorici (N), il fattore di simmetria (A_s) e la risoluzione (R_s). Nelle sezioni precedenti sono state descritte le espressioni teoriche di N e R_s , di seguito sono però riportate equazioni più pratiche che consentono di calcolare questi parametri dagli elettroferogrammi.

NUMERO APPARENTE DI PIATTI TEORICI

Il numero di piatti teorici (N) può essere calcolato usando l'espressione:

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

t_R = tempo di migrazione o distanza lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dal massimo del picco corrispondente al componente,

w_h = larghezza del picco e metà altezza.

RISOLUZIONE

La risoluzione (R_s) tra picchi di altezza simile di due componenti può essere calcolata usando l'espressione:

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

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

t_{R1} e t_{R2} = tempi di migrazione o distanze lungo la linea di base dal punto di iniezione alla perpendicolare tracciata dai massimi dei due picchi adiacenti,

w_{h1} e w_{h2} = larghezza dei picchi a metà altezza.

Quando appropriato, la risoluzione può essere calcolata misurando l'altezza dell'avvallamento (H_v) tra due picchi parzialmente risolti nella preparazione di riferimento e l'altezza del picco più piccolo (H_p) e calcolando il rapporto picco/avvallamento

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

FATTORE DI SIMMETRIA

Il fattore di simmetria (A_s) del picco può essere calcolato usando l'espressione:

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

$w_{0,05}$ = larghezza del picco ad un ventesimo dell'altezza del picco,

d = distanza tra la perpendicolare tracciata dal massimo del picco e il bordo ascendente del picco ad un ventesimo della sua altezza.

I saggi per la ripetibilità dell'area (deviazione standard delle aree o del rapporto area/tempo di migrazione) e per la ripetibilità del tempo di migrazione (deviazione standard del tempo di migrazione) sono introdotti come parametri di idoneità. La ripetibilità del tempo di migrazione fornisce un saggio di idoneità delle procedure di lavaggio del capillare. Un metodo alternativo per evitare la mancanza di ripetibilità del tempo di migrazione è l'uso del tempo di migrazione relativo ad uno standard interno.

Un saggio per la verifica del rapporto segnale/rumore della preparazione di riferimento (o la determinazione del limite di quantificazione) può anche essere utile per la determinazione delle sostanze correlate.

RAPPORTO SEGNALE/RUMORE

Il limite di rivelazione e il limite della determinazione quantitativa corrispondono rispettivamente a un rapporto segnale/rumore di 3 e di 10. Il rapporto segnale/rumore (S/R) è calcolato usando l'espressione:

$$S/R = \frac{2H}{h}$$

H = altezza del picco corrispondente al componente in questione, nell'elettroferogramma ottenuto con la soluzione di riferimento prescritta, misurata dal massimo del picco alla linea di base estrapolata del segnale osservato su una distanza uguale a venti volte la larghezza a metà altezza,

h = ampiezza del rumore di fondo in un elettroferogramma ottenuto dopo l'iniezione di un bianco, osservato su una distanza uguale a venti volte la larghezza a metà altezza del picco nell'elettroferogramma ottenuto con la soluzione di riferimento prescritta e, se possibile, disposta simmetricamente attorno alla posizione in cui dovrebbe essere riscontrato il picco.

2.2.48. SPETTROMETRIA RAMAN

La spettrometria Raman (diffusione anelastica della luce) è un processo di diffusione della luce nel quale il campione in esame viene irradiato con una intensa luce monocromatica (generalmente luce laser); la luce diffusa dal campione viene analizzata per valutare gli spostamenti di frequenza indotti.

La spettrometria Raman è complementare alla spettrometria infrarossa nel senso che entrambe le tecniche permettono di indagare sulle vibrazioni delle molecole costituenti un materiale. Tuttavia le spettrometrie Raman ed infrarosso hanno sensibilità relative diverse per gruppi funzionali differenti. La spettrometria Raman è particolarmente sensibile per i legami non polari (per es. legami C-C singoli o multipli) mentre lo è meno per i legami polari. Pertanto l'acqua, che ha un intenso spettro di assorbimento infrarosso, è un debole diffusore Raman, tanto da essere utilizzato come solvente per la stessa spettrometria Raman.

Apparecchiatura. Gli spettrometri per la registrazione di spettri Raman sono generalmente costituiti dai seguenti componenti:

- una sorgente di luce monocromatica, di norma un laser, con una lunghezza d'onda nell'ultravioletto, nel visibile o nel vicino infrarosso,

- una adeguata ottica (un insieme di lenti, specchi o fibre ottiche) che convoglia la luce di eccitazione e raccoglie la luce diffusa proveniente dal campione in esame,
- un sistema ottico, monocromatore o filtro, che trasmette gli spostamenti di frequenza derivanti dalla diffusione Raman mentre impedisce alla intensa frequenza incidente (diffusione Rayleigh) di raggiungere il rivelatore,
- un sistema di dispersione (reticolo o prisma), accoppiato con fenditure, per la scelta della lunghezza d'onda ed un rivelatore (generalmente un tubo fotomoltiplicatore),

oppure

- un sistema di dispersione (reticolo o prisma) accoppiato con un rivelatore multicanale (generalmente un sistema con accoppiamento di carica (CCD)),

oppure

- un interferometro con un rivelatore che permette di registrare, nel tempo, la luce diffusa e con un sistema di gestione dati che trasforma questi nel dominio delle frequenze o dei numeri d'onda mediante trasformata di Fourier.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Uno spettro Raman può essere ottenuto da campioni solidi, liquidi o gassosi sia direttamente che mediante contenitori o tubi di vetro; lo spettro si ottiene di norma senza una previa preparazione o diluizione del campione stesso.

La maggiore limitazione della spettrometria Raman è legata al fatto che le impurezze possono dar luogo a fluorescenza interferendo con la rivelazione del molto più debole segnale Raman. L'emissione di fluorescenza può essere evitata scegliendo una sorgente laser la cui linea di eccitazione abbia una lunghezza d'onda più lunga, ad esempio una nel vicino infrarosso. L'intensità di certe linee Raman può essere aumentata in diversi modi come nella spettrometria di "Risonanza Raman" (RR) e nella "Surface Enhanced Raman Spectrometry" (SERS).

Lo spettro di norma si ottiene utilizzando solo pochi microlitri di campioni grazie alla stretta focalizzazione del raggio laser di eccitazione. È necessario pertanto tener presente eventuali inomogeneità del campione che possono essere in parte evitate mediante rotazione del campione stesso.

IDENTIFICAZIONE E DETERMINAZIONE QUANTITATIVA MEDIANTE SOSTANZE DI RIFERIMENTO

Preparare, con la stessa procedura, la sostanza da esaminare e quella di riferimento; registrare gli spettri nelle stesse condizioni operative. I massimi presenti nello spettro ottenuto con la sostanza da esaminare corrispondono, per posizione ed intensità relativa, a quelli osservati nello spettro ottenuto con la sostanza di riferimento (SCR).

Se lo spettro ottenuto con un campione in fase solida mostra differenze nelle posizioni dei massimi, trattare, nello stesso modo, la sostanza da esaminare e la sostanza di riferimento, affinché esse cristallizzino o vengano ottenute nella stessa forma o procedere secondo quanto prescritto nella monografia; registrare di nuovo gli spettri.

La legge di Lambert-Beer non è valida nella spettrometria Raman; l'intensità Raman è invece direttamente proporzionale alla concentrazione delle specie molecolari che danno luogo al processo di diffusione. Come per altre tecniche spettroscopiche la determinazione quantitativa può essere effettuata utilizzando quantità o concentrazioni note di sostanze di riferimento. Poiché questa tecnica ha una risoluzione spaziale piccola si debbono usare accorgimenti per garantire campioni rappresentativi delle sostanze di riferimento e di quelle non note da analizzare, ad esempio assicurandosi che esse si trovino nello stesso stato fisico o utilizzando, per le sostanze liquide, uno standard interno.

IDENTIFICAZIONE E DETERMINAZIONE QUANTITATIVA MEDIANTE COLLEZIONI SPETTRALI E METODI STATISTICI PER LA CLASSIFICAZIONE E LA CALIBRAZIONE

Controllo delle prestazioni dello strumento. Utilizzare l'apparecchiatura secondo le istruzioni del costruttore, effettuare le calibrazioni prescritte ed i saggi di "performance" del sistema ad intervalli regolari in funzione dell'uso dell'apparecchiatura stessa e delle sostanze da analizzare. Quando si usa la spettrometria Raman per dosaggi quantitativi o quando si mettono a punto collezioni spettrali di riferimento a scopo di classificazione o calibrazione (chemometrica), deve porsi particolare attenzione per effettuare le correzioni o per prendere le misure atte al controllo della variabilità del numero d'onda e della intensità di risposta dello strumento.

Verifica della scala dei numeri d'onda. Verificare la scala dei numeri d'onda dello spostamento Raman (normal-

mente espresso in centimetri reciproci) usando un adeguato standard con massimi caratteristici nell'intervallo dei numeri d'onda in studio, per es. una sostanza organica, una lampada al Ne o linee di plasma Ar⁺ da un laser a ioni argon.

La calibrazione dovrebbe essere fatta in modo adeguato al tipo di sostanza da analizzare per es. dovrebbe essere usato uno standard solido quando le sostanze da analizzare sono solide così come uno standard, liquido, nel caso in cui i campioni siano liquidi. Scegliere sostanze adeguate (per es. indene, cicloesano o naftalene) per le quali i numeri d'onda degli spostamenti sono stati accuratamente determinati. Un campione di indene può essere convenientemente messo in un tubo per NMR, chiuso in atmosfera di gas inerte, e conservato al buio e al freddo onde evitarne la degradazione.

Tabella 2.2.48.-1. *Spostamenti del numero d'onda (e tolleranze accettabili) di cicloesano, indene e naftalene*

cicloesano ^a	indene ^b	naftalene ^a
2938,3 (± 1,5)	—	3056,4 (± 1,5)
2923,8 (± 1,5)	—	—
2852,9 (± 1,5)	—	—
—	1609,7 (± 1,0)	1576,6 (± 1,0)
1444,4 (± 1,0)	1552,6 (± 1,0)	1464,5 (± 1,0)
1266,4 (± 1,0)	1205,2 (± 1,0)	1382,2 (± 1,0)
1157,6 (± 1,0)	—	1147,2 (± 1,0)
1028,3 (± 1,0)	1018,6 (± 1,0)	1021,6 (± 1,0)
801,3 (± 1,0)	730,5 (± 1,0)	763,8 (± 1,0)
—	533,9 (± 1,0)	513,8 (± 1,0)

^{a)} *Standard guide for Raman standards for spectrometer calibration* (American Society for Testing and Materials ASTM E 1840).

^{b)} D.A. Carter, W.R. Thompson, C.E. Taylor e J.E. Pemberton, *Applied Spectroscopy*, 1995, **49** (11), 1561-1576.

Verifica della scala intensità-risposta. Le intensità assolute e relative delle bande Raman sono influenzate da diversi fattori tra i quali:

- lo stato di polarizzazione della radiazione incidente,
- lo stato di polarizzazione dell'ottica,
- l'intensità della radiazione incidente,

- differenze nella risposta strumentale,
- differenze di focalizzazione e di geometria del campione,
- differenze nella densità di impaccamento per i campioni solidi.

Appropriati criteri di accettabilità varieranno in funzione dell'applicazione, ma variazioni giornaliere del ± 10 per cento nell'intensità relativa di una banda sono ottenibili nella maggior parte dei casi.

Creazione di una collezione di spettri di riferimento. Registrare gli spettri di un adeguato numero di materiali adeguatamente controllati (per es. come prescritto in una monografia) e che presentino quelle variazioni (produttore, lotto, forma cristallina, dimensioni delle particelle, ecc.) tipiche del materiale in esame. L'insieme degli spettri rappresenta l'informazione che definisce i confini di similarità o i limiti quantitativi che, ad esempio, possono essere usati per identificare la sostanza o per verificare la quantità formata in un processo di produzione. Il numero di sostanze in un "data base" dipende dalla specifica applicazione. La collezione di spettri in un "data base" può essere rappresentata in maniere diverse definite dalla tecnica matematica usata per la classificazione o per le determinazioni quantitative.

La selettività di un "data base" che rende possibile la positiva identificazione di un dato materiale e permette di distinguerlo adeguatamente dagli altri materiali dello stesso "data base" deve essere stabilita durante la procedura di convalida. Tale selettività deve essere regolarmente sottoposta a verifica per assicurare la continua validità dello stesso "data base"; questo è necessario specialmente dopo ogni "significativa" variazione concernente una sostanza (per es. variazione del fornitore o del processo di produzione del materiale) o nella messa a punto della strumentazione Raman (per es. verifica della ripetibilità del numero d'onda e di risposta dello spettrometro).

Il "data base" è utilizzabile solo con lo strumento con il quale è stato ottenuto; per utilizzarlo con uno strumento simile deve essere dimostrato che esso resti valido.

Metodo. Preparare ed esaminare il campione nello stesso modo con il quale è stato ottenuto il "data base". Un'adatta trasformazione matematica dello spettro Raman può essere effettuata per facilitare la comparazione spettrale o la predizione quantitativa.

Il confronto tra spettri o trasformazioni di uno spettro, la predizione quantitativa di certe proprietà o quantità nel materiale in esame possono richiedere l'uso di una adeguata tecnica chemometrica o statistica di calibrazione o di classificazione.

2.2.49. METODO DEL VISCOSIMETRO A SFERA CADENTE

La determinazione della viscosità dinamica di liquidi newtoniani mediante un adatto viscosimetro a sfera cadente è effettuata a $20 \pm 0,1$ °C, salvo diversa indicazione nella monografia. Determinare il tempo necessario alla sfera per percorrere, nel liquido in esame, la distanza tra i due segni ad anello. Il risultato è valido solo se due misure consecutive non differiscono più dell' 1,5 per cento, a meno che per l'apparecchio usato non sia definito un limite più ristretto.

Apparecchiatura. Il viscosimetro a sfera cadente è costituito da un tubo di vetro racchiuso all'interno di un manicotto, in modo da permettere un preciso controllo della temperatura, e da 6 sfere di vetro, di ferro-nichel o di acciaio, con densità e diametri differenti. Il tubo è fissato in modo che l'asse sia inclinato di $10 \pm 1^\circ$ rispetto alla verticale. Due segni circolari sul tubo definiscono la distanza che le sfere devono percorrere. L'apparecchio disponibile in commercio è dotato di tabelle che indicano le costanti, la densità delle sfere e l'adeguatezza delle stesse a diversi intervalli di viscosità.

Metodo Riempire il tubo del viscosimetro, pulito, asciugato e previamente portato a $20 \pm 0,1$ °C, con il liquido da esaminare evitando la formazione di bolle. Inserire la sfera appropriata all'intervallo di viscosità del liquido in esame, in modo da ottenere un tempo di caduta non inferiore a 30 s. Chiudere il tubo e mantenere la soluzione a $20 \pm 0,1$ °C per almeno 15 min. Lasciar percorrere alla sfera, immersa nel liquido, la distanza tra i due segni circolari per una volta senza effettuare la misura. Ripetere l'operazione e cronometrare, a 1/5 di secondo, il tempo impiegato dalla sfera per cadere dal segno superiore a quello inferiore. Ripetere questa operazione almeno 3 volte.

Calcolare la viscosità dinamica η in millipascal-secondi mediante l'espressione:

$$\eta = k (\rho_1 - \rho_2) \times t$$

k = costante, espressa in millimetri quadrati per secondo quadrato,

ρ_1 = densità della sfera utilizzata, espressa in grammi per centimetro cubo,

ρ_2 = densità del liquido in esame, espressa in grammi per centimetro cubo, ottenuta moltiplicando la sua densità relativa d_{20}^{20} per 0,9982,

t = tempo di caduta della sfera in secondi.

2.2.54. FOCALIZZAZIONE ISOELETTRICA

PRINCIPI GENERALI

La focalizzazione isoelettrica è un metodo elettroforetico che separa le proteine in base al loro punto isoelettrico. La separazione viene effettuata su una piastra di gel di poliacrilammide o di agarosio che contiene una miscela di elettroliti anfoteri (anfolti). Quando sono sottoposti ad un campo elettrico gli anfolti migrano nel gel in modo da creare un gradiente di pH. In alcuni casi si usano gel aventi un gradiente di pH immobilizzato ottenuto mediante incorporazione di acidi e basi deboli in regioni specifiche del gel al momento della sua preparazione. Nel momento in cui le proteine depositate raggiungono la regione in cui il pH corrisponde al loro punto isoelettrico, la loro carica viene neutralizzata e la migrazione si ferma. Sulla base della miscela di anfolti scelti è possibile creare gradienti con una gamma diversa di pH.

ASPETTI TEORICI

Quando una proteina si trova in una posizione che corrisponde al suo punto isoelettrico la sua carica netta è nulla e la sua migrazione nella matrice del gel, sotto l'effetto del campo elettrico, si arresta. Il suo spostamento per diffusione resta tuttavia possibile. Il gradiente di pH costringe la proteina a rimanere nella posizione che corrisponde al suo punto isoelettrico, dove essa si trova così concentrata. Questo effetto di concentrazione è chiamato "focalizzazione". L'aumento della tensione applicata, o la riduzione della quantità del campione deposto, ha come effetto quello di migliorare la separazione delle bande. Tuttavia la tensione che si può applicare è limitata dal calore prodotto che deve essere dissipato. L'utilizzo di gel sottili e di un sistema efficace di raffreddamento della piastra, controllato da un termostato, evita al gel di bruciare e permette di ottenere una focalizzazione fine. La separazione è misurata determinando la differenza ΔpI minima alla quale si realizza la separazione di due bande vicine:

$$\Delta pI = 3 \times \sqrt{\frac{D(dpH/dx)}{E(-d\mu/dpH)}}$$

D = coefficiente di diffusione della proteina,

$\frac{d pH}{dx}$ = gradiente di pH,

E = intensità del campo elettrico, in volt per centimetro,

$-\frac{d\mu}{dpH}$ = variazione della mobilità del soluto con il pH nella regione più vicina al pI.

Poiché D e $-d\mu/dpH$ per una data proteina non possono essere cambiate, due sono i mezzi possibili per migliorare la separazione: ridurre l'intervallo di pH e aumentare l'intensità del campo elettrico.

ASPETTI PRATICI

Si devono considerare con un'attenzione particolare le caratteristiche e/o la preparazione del campione. La presenza di sali nel campione può presentare dei problemi ed è preferibile preparare il campione utilizzando, per quanto possibile, acqua deionizzata o una soluzione di anfoliti al 2 per cento con l'ausilio della dialisi o di una filtrazione su gel, se necessario.

Generalmente si utilizza una tensione di 2500 V che è considerata ottimale in condizioni operative definite. Può essere usata una potenza costante fino a 30 W e si ottiene una separazione completa generalmente in 1,5-3,0 h.

Il tempo richiesto per realizzare la focalizzazione su gel di poliacrilammide su strato sottile viene determinato mediante la deposizione di una proteina colorata (per es. emoglobina) in punti differenti del gel e successiva applicazione del campo elettrico: l'equilibrio si ottiene quando i profili elettroforetici ottenuti con i differenti depositi sono tutti identici. In alcuni protocolli, il punto finale di focalizzazione è determinato dal tempo trascorso a partire dalla deposizione del campione.

La risoluzione tra bande proteiche su un gel per la focalizzazione isoelettrica preparato con degli anfoliti vettori può essere abbastanza buona. Una risoluzione migliore può essere ottenuta utilizzando dei gradienti di pH immobilizzati nei quali le specie tampone, analoghe agli anfoliti vettori, sono copolimerizzate entro la matrice del gel. Proteine con pI che differiscono di sole 0,02 unità di pH possono essere separate utilizzando un gel preparato con anfoliti vettori, mentre i

gradienti di pH immobilizzati possono essere utilizzati per separare proteine che differiscono di circa 0,001 unità di pH.

La focalizzazione isoelettrica su gel può essere usata come saggio di identità, se la migrazione sul gel è confrontata con una preparazione di riferimento e con proteine di taratura per la focalizzazione isoelettrica; essa può essere usata come saggio limite, se la densità di una banda da focalizzazione isoelettrica è confrontata, soggettivamente, con la densità delle bande che compaiono in una preparazione di riferimento; essa può anche essere usata come saggio semi-quantitativo se la densità è misurata con un densitometro, o uno strumento analogo, per determinare la concentrazione relativa di proteine nelle bande.

APPARECCHIATURA

Un apparecchio per focalizzazione isoelettrica comprende:

- un generatore di corrente continua a tensione variabile e potenza stabilizzata,
- una camera per la focalizzazione isoelettrica di plastica rigida contenente, come supporto del gel, una piastra refrigerata costruita con materiale appropriato,
- un coperchio in materiale plastico che porta degli elettrodi di platino che vengono messi in contatto con il gel per mezzo di strisce di carta di larghezza, lunghezza e spessore appropriati, impregnate con soluzioni degli elettroliti anodici e catodici.

FOCALIZZAZIONE ISOELETTRICA SU GEL DI POLIACRILAMMIDE: DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELLA PROCEDURA

Il metodo di seguito descritto è una procedura di focalizzazione isoelettrica su gel di poliacrilammide, su strato spesso, che si utilizza salvo indicazione diversa nella monografia.

PREPARAZIONE DEI GEL

Stampo. Lo stampo (vedere Figura 2.2.54.-1) è costituito da una lastra di vetro (A) sulla quale è disposto un film di poliestere (B) destinato a facilitare la manipolazione del gel, di uno o più spaziatori (C), di una seconda lastra di vetro (D) e di pinze che servono a mantenere insieme i differenti elementi.

Gel di poliacrilammide al 7,5 per cento. Disciogliere 29,1 g di *acrilammide R* e 0,9 di *metilenbisacrilammide R* in 100 ml di *acqua R*. A 2,5 volumi di questa solu-

zione aggiungere la miscela di anfoliti specificata nella monografia e portare a 10 volumi con *acqua R*. Mescolare accuratamente e degassare la soluzione.

Preparazione dello stampo. Stendere il film di poliestere sulla lastra di vetro inferiore, collocare lo spaziatore, poi la seconda lastra di vetro e fissare con le pinze. Prima dell'uso, porre la soluzione su un agitatore magnetico ed aggiungere 0,25 volumi di una soluzione (100 g/l) di *ammonio persolfato R* e 0,25 volumi di *tetrametiletildiammina R*. Versare immediatamente la soluzione riempiendo lo spazio tra le lastre di vetro dello stampo.

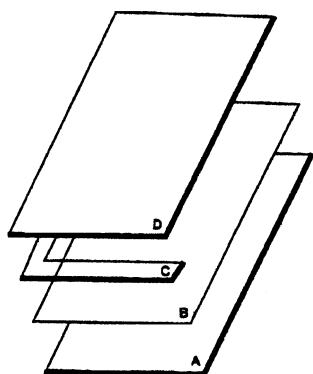


Figura 2.2.54. 1 - *Stampo*

PROCEDURA

Smontare lo stampo e, utilizzando il film di poliestere, trasferire il gel sul supporto raffreddato, bagnato con alcuni millilitri di un liquido appropriato, facendo attenzione ad evitare la formazione di bolle d'aria. Preparare le soluzioni da esaminare e le soluzioni di riferimento come indicato nella monografia. Per la deposizione dei campioni, porre sul gel delle strisce di carta con dimensioni di 10 mm × 5 mm circa, poi impregnarle con la quantità prescritta delle soluzioni. Se la concentrazione in proteina di una soluzione è troppo bassa, si possono sovrapporre più strisce di carta (fino a 4). Deposare, in maniera analoga, la quantità prescritta di una soluzione contenente proteine con punto isoelettrico noto che serviranno da marcatori di pH per tarare il gel. Alcuni protocolli prevedono di formare nel gel, al momento della polimerizzazione, dei pozzetti dove deposare le soluzioni anziché utilizzare le strisce di carta. Tagliare due strisce di carta (stoppini) della stessa lunghezza del gel ed impregnarle con le soluzioni elettrolitiche: acida per l'anodo ed alcalina per il catodo. La composizione delle soluzioni anodica e catodica sono riportate nella monografia. Applicare i due stoppini ai lati del gel ad alcuni millimetri dal

bordo. Chiudere con il coperchio in modo che gli elettrodi siano in contatto con gli stoppini (rispettivamente il polo anodico e il polo catodico). Procedere con la focalizzazione isoelettrica applicando i parametri elettrici descritti nella monografia. Interrompere la corrente quando la migrazione della miscela delle proteine di riferimento è stabilizzata. Utilizzare una pinza per rimuovere dal gel le strisce utilizzate per la deposizione e i due stoppini collegati agli elettrodi. Immergere il gel nella *soluzione di fissazione per la focalizzazione isoelettrica su gel di poliacrilammide R* ed incubare a temperatura ambiente, agitando dolcemente, per 30 min. Togliere la soluzione, aggiungere 200 ml della *soluzione di decolorazione R* ed incubare agitando continuamente per 1 h. Scolare il gel, aggiungere la *soluzione di colorazione al Comassie R* ed incubare per 30 min. Decolorare il gel mediante diffusione passiva con la *soluzione di decolorazione R* fino a che le bande siano nettamente visibili sul fondo chiaro. Annotare la posizione e l'intensità delle bande dell'elettroforegramma come prescritto nella monografia.

VARIAZIONI RISPETTO AL METODO GENERALE (SOGGETTE A CONVALIDA)

Quando si fa riferimento ad un metodo generale sulla focalizzazione isoelettrica, le variazioni di metodologia o di procedura possono essere soggette a convalida. Queste variazioni possono comprendere:

- l'uso di gel su piastra pronti per l'uso, disponibili in commercio,
- l'uso di gradienti di pH immobilizzati,
- l'uso di gel cilindrici,
- l'uso di gel su piastre di dimensioni diverse, in particolare di gel ultrasottili (0,2 mm),
- variazioni della procedura di deposizione dei campioni, in particolare dei volumi depositi o l'uso di maschere di deposito o di stoppini costituiti da materiale diverso dalla carta,
- variazioni della condizioni di migrazione, in particolare del campo elettrico, in funzione delle dimensioni del gel e dell'apparecchio, e l'uso di tempi di migrazione fissati piuttosto che una interpretazione soggettiva della stabilità della banda,
- l'inclusione di una fase di pre-focalizzazione,
- l'uso di strumentazione automatica,
- l'uso di gel di agarosio.

CONVALIDA DELLE PROCEDURE DI FOCALIZZAZIONE ISOELETTTRICA

Se vengono utilizzati dei metodi alternativi al metodo generale, essi devono essere convalidati. Per convalidare la separazione possono essere utilizzati i seguenti criteri:

- formazione di un gradiente di pH stabile avente le caratteristiche desiderate, valutato utilizzando, per esempio, marcatori di pH colorati a punti isoelettrici noti,
- confronto con l'elettroferogramma fornito con la sostanza chimica di riferimento per la preparazione da esaminare,
- ogni altro criterio di convalida prescritto nella monografia.

VARIAZIONI SPECIFICHE DEL METODO GENERALE

Le variazioni del metodo generale richieste per l'analisi di specifiche sostanze possono essere specificate in dettaglio nelle monografie. Queste comprendono:

- l'aggiunta di urea nel gel di migrazione (una concentrazione 3 M è spesso soddisfacente per mantenere la proteina in soluzione, ma può essere usata fino ad una concentrazione 8 M), per alcune proteine che precipitano al loro punto isoelettrico. In questo caso nella formulazione del gel si aggiunge l'urea per mantenere la proteina in soluzione. Se si utilizza l'urea si devono usare solo soluzioni preparate di recente per prevenire la carbammilazione della proteina,
- l'utilizzo di metodi di colorazione alternativi,
- l'uso di additivi per il gel, come detergenti non ionici (per es. ottilglucoside) o detergenti anfolitici per prevenire l'aggregazione o la precipitazione delle proteine.

ASPETTI DA CONSIDERARE

I campioni possono essere depositati in qualsiasi area del gel ma in generale si dovrebbero depositare in aree dove si suppone che essi si focalizzino. Per proteggere le proteine da ambienti a pH estremi i campioni non dovrebbero essere depositati in prossimità degli elettrodi. Durante lo sviluppo del metodo l'analista può provare a depositare la proteina in tre posizioni sul gel (per es. al centro e alle estremità); il comportamento di una proteina depositata alle estremità opposte del gel può non essere identico.

Un fenomeno noto come deriva catodica, in cui il gradiente di pH si deteriora nel tempo, può verificarsi se la focalizzazione ha una durata troppo lunga. Benché il fenomeno non sia ancora ben compreso, l'elettroendosmosi e l'adsorbimento di diossido di carbonio possono essere fattori che portano alla deriva catodica. Questo fenomeno si osserva nel momento in cui la proteina focalizzata migra fuori della estremità catodica del gel. Per correggere questo problema possono essere utilizzati i gradienti di pH immobilizzati.

Durante la focalizzazione è importante un raffreddamento efficace (4 °C circa) del letto su cui è adagiato il gel. Campi elettrici elevati, usati durante la focalizzazione isoelettrica, possono provocare un surriscaldamento ed influenzarne la qualità.

2.2.57. SPETTROMETRIA DI EMISSIONE ATOMICA A PLASMA ACCOPPIATO INDUTTIVAMENTE

PRINCIPIO GENERALE

La spettrometria di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente è un metodo di spettrometria di emissione atomica (SEA) che utilizza come sorgente di eccitazione un plasma, accoppiato induttivamente (ICP, *inductively coupled plasma*).

Il plasma accoppiato induttivamente è un gas inerte altamente ionizzato, generalmente argon, con eguale numero di elettroni e ioni, alimentato da un campo di radio-frequenza. L'elevata temperatura all'interno del plasma desolvata, vaporizza, eccita (rivelazione mediante spettrometria di emissione atomica (SEA) o ionizza (rivelazione mediante spettrometria di massa (SM)) gli atomi del campione. I limiti di rivelabilità oscillano, generalmente, da nanogrammi (SM) a microgrammi (SEA) per litro.

Il plasma viene generato da un flusso tangenziale di un gas di supporto attraverso una "torcia", ovvero un sistema composto da tre tubi di quarzo concentrici. Una spirale di induzione in metallo circonda la parte superiore della torcia ed è collegata ad un generatore di radio-frequenze (RF). Una potenza di circa 700-1500 W viene applicata alla spirale con conseguente formazione di un campo magnetico oscillante corrispondente alla frequenza del generatore (nella maggior parte dei casi 27-40 MHz). Il plasma si forma quando il gas di supporto diventa conduttore per effetto della scarica elettrica, con conseguente formazione di ioni ed elettroni, che innescano la reazione. All'interno del campo magnetico indotto, le particelle cariche (elet-

troni e ioni) vengono obbligate a percorrere un anello circolare chiuso. La resistenza che incontrano al loro flusso genera calore che produce ulteriore ionizzazione. Il processo avviene quasi istantaneamente ed il plasma raggiunge il suo massimo sviluppo in potenza e dimensione. L'oscillazione della potenza della radio-frequenza applicata alla spirale genera campi elettrici e magnetici situati nella parte superiore della torcia. Quando una scintilla, prodotta da un tubo Tesla o da altri dispositivi di innesco, è applicata al gas di trasporto che passa attraverso la torcia, alcuni elettroni vengono estratti dagli atomi del gas di supporto. Questi elettroni vengono quindi catturati dal campo magnetico ed accelerati; il fenomeno dell'incremento di energia degli elettroni mediante l'uso di una spirale viene definito accoppiamento induttivo. Questi elettroni dotati di elevata energia collidono a loro volta con altri atomi del gas di supporto strappando altri elettroni. Si genera una reazione a catena con formazione di ioni argon e trasformazione del gas in un plasma formato da atomi, elettroni e ioni del gas di supporto. Il plasma viene quindi mantenuto in vita all'interno della torcia e della spirale di induzione in metallo man mano che l'energia della radio-frequenza viene trasferita ad esso dal processo di accoppiamento induttivo.

L'ICP appare come un plasma, a forma di piuma, intenso e molto brillante. Alla base, designata regione induttiva (RI), la forma del plasma è toroidale ed è questa la zona in cui ha luogo il trasferimento dell'energia induttiva dalla spirale al plasma. Il campione viene introdotto, attraverso questa zona, nel centro del plasma.

APPARECCHIATURA

È costituita essenzialmente dai seguenti componenti:

- un sistema di introduzione del campione che consiste in una pompa peristaltica che invia nel nebulizzatore, a flusso costante, la soluzione contenente il campione;
- un generatore di radio-frequenze (RF);
- una torcia per il plasma;
- un sistema ottico di messa a fuoco dell'immagine del plasma sulla fenditura di ingresso dello spettrometro. L'osservazione radiale della radio-frequenza da parte del sistema di separazione e rivelazione può essere radiale o assiale; il primo sistema dà risultati migliori nel caso di matrici complesse (alcali o matrici organiche), mentre il secondo dà migliori limiti di rivelabilità nel caso di matrici semplici;

- un sistema di dispersione delle lunghezze d'onda, consistente in reticoli di diffrazione, prismi, filtri o interferometri;
- un rivelatore che trasforma l'energia radiante in energia elettrica;
- un sistema di acquisizione dati.

INTERFERENZA

È il fenomeno per cui il segnale di un analita in un campione è differente dal segnale dello stesso analita in una soluzione di taratura alla stessa concentrazione. Il ben noto fenomeno della interferenza chimica che si incontra nella tecnica di assorbimento atomico è qui generalmente ridotto. Nei rari casi in cui questo fenomeno si presenta, può essere necessario aumentare la potenza della radio-frequenza o ridurre il flusso del gas interno di supporto. L'interferenza nella tecnica ICP-SEA può essere di origine spettrale o anche il risultato di alte concentrazioni di alcuni elementi o componenti della matrice. Le interferenze di natura fisica dovute alle differenze di viscosità e tensione superficiale tra soluzioni campione e soluzioni di riferimento, possono essere minimizzate mediante diluizione del campione, aggiustamento della matrice (calibrazione in matrice), uso di standards interni o mediante il metodo delle aggiunte (incremento standard).

Un altro tipo di interferenza è dovuto alla presenza di elementi facilmente ionizzabili, quali i metalli alcalini o alcalini terrosi. In campioni che contengono questi elementi in alte concentrazioni (superiori allo 0,1 per cento), si possono riscontrare fenomeni di soppressione o innalzamento del segnale di emissione.

Interferenza spettrale: può essere dovuta alla presenza di altre righe o a spostamenti del rumore di fondo. Queste linee possono corrispondere alla riga dell'argon (osservata al di sopra di 300 nm), a bande dovute al gruppo OH derivato dalla decomposizione dell'acqua (a circa 300 nm), a bande dovute al gruppo NO derivate dall'interazione del plasma con l'aria dell'ambiente (tra 200 nm e 300 nm) e ad altri elementi presenti nel campione, specialmente quelli ad alte concentrazioni.

Le interferenze spettrali si possono dividere in quattro categorie: spostamento semplice del fondo, deriva del fondo, sovrapposizione diretta di righe spettrali, spostamento complesso del fondo.

Interferenza dovuta ad assorbimento: si origina quando parte dell'emissione dell'analita viene assorbita prima di raggiungere il rivelatore. Questo effetto si osserva in particolare quando un elemento, che ha un forte potere

di emissione, è in concentrazione talmente alta che gli atomi o ioni di questo elemento che si trovano nel più basso stato di energia transizionale assorbono quantità significative di radiazioni emesse da specie eccitate in esame. Questo effetto, noto come "auto-assorbimento", determina la fine della linearità di risposta nella parte alta della retta di taratura.

Sistema spettrale multicomponente: per evitare il problema delle interferenze spettrali, vengono effettuate comunemente determinazioni usando righe spettrali di emissione multiple. Un metodo più accurato per effettuare correzioni dovute a questo problema, è quello di usare le informazioni ottenute con avanzati rivelatori mediante il sistema spettrale multicomponente. Questo sistema è in grado di calcolare non solo le interferenze, ma anche il contributo al rumore di fondo derivante dalla matrice, creando una formula correttiva. Il sistema spettrale multicomponente utilizza modelli matematici di correzione delle interferenze basati sull'analisi dell'analita puro, della matrice e del bianco, creando, di conseguenza, un modello matematico corretto per le interferenze. Ciò permette la determinazione della emissione dell'analita in matrici complesse con limiti di rivelabilità e accuratezza migliorati.

PROCEDURA

PREPARAZIONE E INTRODUZIONE DEL CAMPIONE

Importante, durante la preparazione del campione, è assicurarsi che la concentrazione dell'analita cada all'interno dell'intervallo di lavoro dello strumento. Ciò può essere ottenuto mediante diluizione o pre-concentrazione del campione stesso; bisogna assicurarsi inoltre che la soluzione possa essere nebulizzata in modo riproducibile. Molti sistemi di introduzione del campione tollerano alte concentrazioni di acido, ma l'uso di acido solforico e fosforico possono contribuire all'aumento del rumore di fondo; vengono pertanto preferiti acido nitrico e cloridrico. È possibile usare anche acido fluoridrico a patto che siano disponibili sistemi di introduzione del campione e torce resistenti a tale acido (per esempio perfluoroalcolossipolimeri). Nella scelta del metodo di introduzione del campione, bisogna tener conto dei requisiti di sensibilità, stabilità, velocità, dimensioni del campione, resistenza alla corrosione e intasamento. L'uso di un nebulizzatore a "flusso incrociato" insieme ad una camera di nebulizzazione e una torcia è sufficiente nella maggior parte dei casi. La pompa peristaltica, usata nella tecnica SEA-ICP, introduce i campioni ad un flusso di 1 ml/min o meno.

Nel caso vengano usati solventi organici, bisogna fare ricorso all'uso di ossigeno per eliminare la formazione di strati organici.

SCelta DELLE CONDIZIONI OPERATIVE

Le condizioni operative suggerite dal costruttore dello strumento devono, generalmente, essere seguite. Le condizioni operative sono diverse a seconda che si lavori con soluzioni acquose o solventi organici.

I seguenti parametri devono essere accuratamente scelti:

- lunghezza d'onda,
- velocità del gas di supporto (tubi esterni, intermedi e interni della torcia),
- potenza della radio-frequenza,
- lettura radiale o assiale,
- velocità del flusso della pompa,
- impostazione dei parametri del rivelatore (sensibilità/voltaggio per i rivelatori fotomoltiplicatori, altre condizioni per i rivelatori a "stato solido"),
- tempo di integrazione (il tempo impostato per misurare l'intensità dell'emissione ad ogni lunghezza d'onda).

CONTROLLO DELLE PRESTAZIONI DELLO STRUMENTO

Idoneità del sistema

Per assicurare adeguate prestazioni del sistema SEA-ICP si possono effettuare i seguenti saggi con adeguate soluzioni di controllo:

- misura del rapporto Mg II (280,270 nm)/Mg I (285,213 nm) per controllare il trasferimento di energia (generatore, torcia, plasma),
- trasferimento del campione mediante controllo dell'efficienza e della stabilità del nebulizzatore,
- misura della larghezza del picco a metà altezza, per esempio per As (189,042 nm), Mn (257,610 nm), Cu (324,754 nm) o Ba (455,403), per controllare la risoluzione del sistema ottico.
- la prestazione analitica che può essere calcolata mediante i limiti di rivelabilità degli elementi scelti nell'intervallo di lunghezze d'onda.

CONVALIDA DEL METODO

La verifica periodica di metodi descritti nelle monografie deve essere effettuata ad opportuni intervalli di tempo con risultati soddisfacenti.

LINEARITÀ

Preparare ed analizzare almeno 4 soluzioni di riferimento nell'intervallo di taratura, più un bianco. Effettuare almeno 5 misure per ogni soluzione.

La curva di taratura viene calcolata, mediante regressione lineare, dai dati ottenuti nel saggio di taratura. La curva di regressione, le medie, i dati misurati e l'intervallo fiduciario della curva di taratura vengono riportati su grafico.

Il metodo è valido quando:

- il coefficiente di correlazione è superiore o uguale a 0,99,
- gli scostamenti dal valore medio ad ogni livello di taratura sono distribuiti casualmente intorno alla curva di taratura.

Calcolare la media e la deviazione standard relativa al livello di taratura più basso e più alto.

Nel caso in cui il rapporto delle deviazioni standard, stimate al livello di taratura più basso e più alto, è minore di 0,5 o maggiore di 2,0, si può ottenere una stima più precisa della curva di taratura col metodo della regressione lineare ponderata. Ambedue le funzioni, la lineare e la quadratica, devono essere applicate ai dati per trovare la migliore funzione applicabile.

Se i valori medi trovati, confrontati con la curva di taratura mostrano deviazione dalla linearità, viene usata la regressione lineare bidimensionale.

ACCURATEZZA

Verificare l'accuratezza preferibilmente usando materiale di riferimento certificato (MRC). Qualora ciò non fosse possibile, effettuare un saggio di recupero.

Recupero. Il recupero deve essere compreso tra il 90 e 110 per cento quando si effettua la determinazione del titolo. Il saggio non è valido, per esempio, se il recupero nelle determinazioni di elementi in tracce è al di fuori dell'intervallo 80-120 per cento del valore teorico. Il recupero può essere determinato su un'adatta soluzione di riferimento addizionata di quantità note dell'analita in un intervallo di concentrazione confrontabile con quella dei campioni da determinare.

RIPETIBILITÀ

La ripetibilità deve essere al massimo del 3 per cento nella determinazione di un titolo e del 5 per cento nel caso di dosaggio di un'impurezza.

LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

Verificare che il limite di quantificazione (determinato usando il metodo del 10 σ) si trovi al di sotto del valore da misurare.

2.2.58. SPETTROMETRIA DI MASSA A PLASMA ACCOPPIATO INDUTTIVAMENTE

La spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente è un metodo di spettrometria di massa (SM) che utilizza come sorgente di ionizzazione un plasma accoppiato induttivamente (ICP, *inductively coupled plasma*). I principi di base della formazione di un ICP sono descritti nel capitolo 2.2.57 sulla spettrometria di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente.

L'ICP-SM utilizza la capacità del ICP di generare ioni carichi da elementi contenuti nel campione. Questi ioni vengono inviati in uno spettrometro di massa che li separa in base al rapporto tra la massa e il numero di cariche elementari (m/z). La maggior parte degli spettrometri di massa utilizzati sono, di solito, a quadrupolo o a settore magnetico. Gli ioni vengono trasportati dal plasma al sistema ottico attraverso due coni: campionatore e scrematore, che formano l'interfaccia. Il sistema ottico consiste di una lente elettrostatica che cattura gli ioni da una zona a pressione atmosferica e li convoglia in una zona mantenuta ad una pressione di 10^{-8} Pa, o meno, mediante una pompa turbomolecolare. Dopo essere stati filtrati, gli ioni aventi un certo rapporto massa/cariche, vengono indirizzati verso un rivelatore (canale elettromoltiplicatore, gabbia di Faraday, dinodi) dove le correnti ioniche vengono convertite in segnali elettrici. La quantità dell'elemento viene determinata in base al numero di ioni che arrivano e generano impulsi elettrici nell'unità di tempo.

Il sistema di introduzione del campione e la manipolazione dei dati sono simili alla tecnica SEA-ICP descritta nel capitolo (2.2.57).

APPARECCHIATURA

È costituita dai seguenti componenti:

- un sistema di introduzione del campione formato da una pompa peristaltica che invia, ad un flusso costante, la soluzione contenente il campione nel nebulizzatore;
- un generatore di radio-frequenze (RF);
- una torcia a plasma;
- una interfaccia che consiste in una serie di coni per il trasporto degli ioni nel sistema ottico;
- uno spettrometro di massa;
- un rivelatore;
- un sistema di acquisizione dati.

INTERFERENZE

L'interferenza di massa è il maggior problema in questo tipo di tecnica a causa delle specie isobariche che si sovrappongono al segnale di massa delle specie in esame, specialmente nell'intervallo centrale di pesi molecolari (40-80 u.m.a.). La combinazione di ioni porta a interferenze poliatomiche o molecolari (per es: $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ con ^{56}Fe o $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ con ^{80}Se). Interferenze dovute alla matrice possono anche verificarsi con alcuni analiti. Alcuni campioni influenzano la formazione delle goccioline oppure la temperatura di ionizzazione all'interno del plasma. Questi fenomeni possono portare alla soppressione di segnali dell'analita. L'interferenza fisica può essere evitata usando il metodo della standardizzazione interna o dell'incremento standard. L'elemento che viene usato come standard interno viene scelto in base all'elemento che si deve determinare; per es: ^{59}Co e ^{115}In possono essere usati come standards interni.

La principale caratteristica di uno strumento ICP-MS è la sua risoluzione, ovvero la capacità di separare due masse vicine. Gli strumenti con quadrupolo sono, da questo punto di vista, inferiori agli spettrometri a settore magnetico.

PROCEDURA

PREPARAZIONE E INTRODUZIONE DEL CAMPIONE

La preparazione di un campione generalmente implica come primo stadio la digestione della matrice del campione, mediante, per esempio, un forno a microonde. È importante inoltre assicurarsi che la concentrazione dell'analita (mediante diluizione o concentrazione, se necessario), cada all'interno dell'intervallo di lavoro dello strumento, e che la soluzione che contiene il campione venga nebulizzata in modo appropriato.

Molti sistemi di introduzione tollerano alte concentrazioni di acidi ma l'uso di acido solforico e fosforico possono contribuire all'aumento del rumore di fondo. Vengono pertanto preferiti acido nitrico e cloridrico. È possibile usare anche acido fluoridrico a patto che siano disponibili sistemi di introduzione del campione e torce resistenti a tale acido. Nella scelta del metodo di introduzione del campione, bisogna tener conto dei requisiti di sensibilità, stabilità, velocità, dimensioni del campione, resistenza alla corrosione e resistenza all'intasamento. L'uso di un nebulizzatore a flusso incrociato insieme con una camera di nebulizzazione e una torcia

è adatto nella maggior parte dei casi. La pompa peristaltica usata introduce i campioni ad un flusso compreso tra 20 $\mu\text{l}/\text{min}$ e 1000 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Nel caso vengano usati solventi organici, bisogna fare ricorso all'uso di ossigeno per eliminare la formazione di strati organici.

SCelta DELLE CONDIZIONI OPERATIVE

Le condizioni operative suggerite dal costruttore dello strumento devono, generalmente, essere seguite. Le condizioni operative sono diverse a seconda che si lavori con soluzioni acquose o solventi organici.

I seguenti parametri devono essere accuratamente scelti:

- scelta del materiale dei coni,
- velocità di flusso del gas di supporto (tubi esterni, intermedi e interni della torcia),
- potenza della radio-frequenza,
- velocità del flusso della pompa,
- scelta dell'isotopo dell'elemento da misurare (massa).

SCelta DELL'ISOTOPO

La scelta dell'isotopo viene fatta seguendo più criteri. In genere viene scelto l'isotopo più abbondante di un dato elemento per ottenere il massimo di sensibilità. In certi casi, viene preferito un isotopo avente la minore interferenza con le altre specie presenti nella matrice o nel gas di supporto. Generalmente nel software di gestione dello strumento vengono date informazioni circa possibili interferenze isobariche o derivanti da ioni poliatomici o di altro tipo quali ad esempio idruri, ossidi, cloruri.

CONTROLLO DELLE PRESTAZIONI DELLO STRUMENTO

Idoneità del sistema

- La messa a punto dello strumento permette il controllo dello stesso prima di procedere alle misure. L'accuratezza dello strumento viene controllata mediante una soluzione contenente più isotopi che coprono l'intervallo delle masse in esame; vale a dire ^9Be , ^{59}Co , ^{89}Y , ^{115}In , ^{140}Ce e ^{209}Bi .
- Vengono registrate la sensibilità e la stabilità a breve e lungo termine. I parametri dello strumento (condizione del plasma, dati relativi al sistema di focalizza-

zione degli ioni e quadrupolo) devono essere ottimizzati allo scopo di ottenere il numero di impulsi più elevato possibile.

- La messa a punto della risoluzione e la taratura delle masse devono essere effettuate con soluzioni di Li, Y e Tl per assicurare una risposta accettabile in un ampio intervallo di masse.
- Deve essere valutata l'efficienza del plasma nel decomporre gli ossidi allo scopo di minimizzare le interferenze. La misura del rapporto Ce/CeO o Ba/BaO è un buon indicatore e viene richiesto un livello inferiore al 3 per cento.
- La riduzione della formazione di ioni con doppia carica viene fatta con Ba o Ce. Il rapporto del segnale dovuto alla carica doppia per un certo elemento non deve superare il 2 per cento.
- La stabilità a lungo termine viene controllata mediante una soluzione di riferimento all'inizio e alla fine della sequenza della analisi per verificare che depositi di sale sui coni non abbiano ridotto l'intensità del segnale durante l'analisi.

CONVALIDA DEL METODO

La prestazione soddisfacente dei metodi prescritti nelle monografie deve essere verificata ad opportuni intervalli di tempo.

LINEARITÀ

Preparare ed analizzare almeno 4 soluzioni di riferimento nell'intervallo di taratura più un bianco. Effettuare almeno 5 misure.

La curva di taratura viene calcolata mediante regressione lineare da tutti i dati ottenuti nel saggio di taratura. La curva di regressione, le medie, i dati misurati e l'intervallo fiduciario della curva di taratura vengono riportati in grafico.

Il metodo è valido quando:

- il coefficiente di correlazione è superiore o uguale a 0,99 ;
- gli scostamenti ad ogni livello di taratura sono distribuiti casualmente intorno alla curva di taratura.

Calcolare la media e la deviazione standard relativa al livello più basso e più alto della curva di taratura.

Nel caso in cui il rapporto della deviazione standard stimata al livello di taratura più basso e più alto è minore di 0,5 o maggiore di 2,0 una stima più precisa

della curva di taratura può essere ottenuta con il metodo della regressione lineare ponderata. Ambedue le funzioni, la lineare e la quadratica ponderata, devono essere applicate ai dati per trovare la migliore funzione applicabile.

Se i valori medi trovati, confrontati con la curva di taratura mostrano deviazione dalla linearità, allora viene usata la regressione lineare bidimensionale.

ACCURATEZZA

Verificare l'accuratezza preferibilmente usando materiale di riferimento certificati (MRC). Qualora ciò non fosse possibile, effettuare un saggio di recupero.

Recupero. Il recupero deve essere compreso tra il 90 e 110 per cento quando si effettua una determinazione del titolo. Il saggio non è valido se il recupero, per esempio nelle determinazioni di elementi in tracce, è al di fuori dell'intervallo 80-120 per cento del valore teorico. Il recupero può essere determinato con un'adatta soluzione di riferimento addizionata di quantità note dell'analita in un intervallo di concentrazione confrontabile con i campioni da determinare.

RIPETIBILITÀ

La ripetibilità non è superiore del 3 per cento nella determinazione di un titolo e del 5 per cento nel caso di dosaggio di un'impurezza.

LIMITE DI QUANTIFICAZIONE

Verificare che il limite di quantificazione (determinato usando il metodo del 10σ) sia al di sotto del valore da misurare.

2.2.60. PUNTO DI FUSIONE. METODO STRUMENTALE

Questo capitolo descrive la misura del punto di fusione con il metodo al capillare utilizzando un metodo di determinazione strumentale.

APPARECCHIATURA

Vi sono due modi di osservazione automatica, secondo la configurazione scelta:

- modo A: mediante la trasmissione della luce attraverso il tubo capillare contenente il campione;
- modo B: mediante la luce riflessa dal campione contenuto nel tubo capillare.

In ambedue i modi, il tubo capillare è collocato in una cavità del blocco metallico che viene riscaldato

Punto di fusione. Metodo strumentale

elettricamente e controllato con un sensore per la temperatura collocato in un'altra cavità del blocco. Il blocco riscaldante può essere mantenuto accuratamente, ad una temperatura predefinita ($\pm 0,1$ °C) dall'elemento riscaldante, o essere riscaldato ad una velocità lenta e regolare di 1 °C/min, dopo un periodo iniziale isotermico.

Nel modo A, un fascio luminoso attraversa una fenditura orizzontale incrociando il tubo capillare. Un sensore rivela il raggio alla fine del foro cilindrico dopo il tubo capillare.

Nel modo B, un fascio luminoso illumina frontalmente il tubo capillare e il sensore registra l'immagine.

La temperatura alla quale il segnale emesso dal sensore cambia in rapporto al suo valore iniziale è definito come l'inizio della fusione e la temperatura alla quale il segnale emesso dal sensore raggiunge il suo valore finale è definito come la fine della fusione o il *punto di fusione*.

Utilizzare tubi capillari di vetro, aperti ad una estremità, di circa 100 mm di lunghezza, con un diametro esterno di 1,3–1,5 mm e un diametro interno di 0,8–0,3 mm. Lo spessore delle pareti del tubo è 0,1–0,3 mm.

Alcune apparecchiature permettono la determinazione del punto di fusione su più di un tubo capillare.

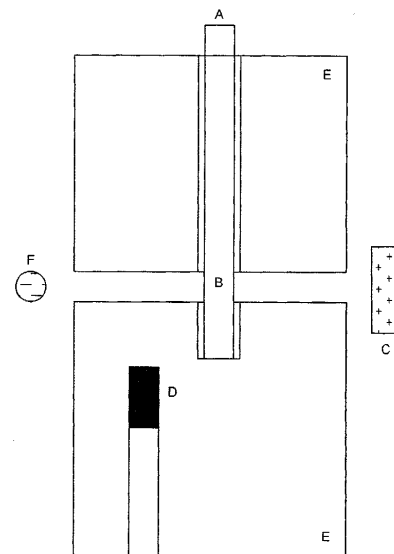
METODO

Introdurre nel tubo capillare una quantità sufficiente della sostanza da esaminare, previamente trattata secondo quanto prescritto nella monografia, per formare in ogni tubo una colonna compatta di circa 4 mm di altezza. Lasciar riposare i tubi per un tempo appropriato alla temperatura prescritta.

Procedere come segue oppure secondo le istruzioni del fabbricante. Riscaldare il blocco riscaldante fino ad una temperatura di circa 5 °C inferiore al punto di fusione presunto per la sostanza in esame.

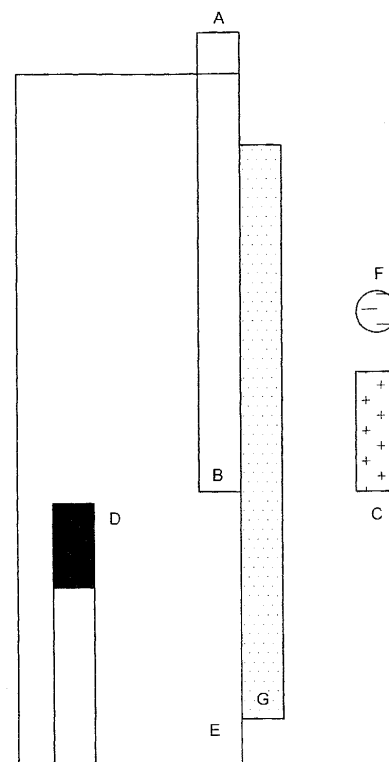
Sistemare il tubo capillare nel blocco riscaldante, con l'estremità chiusa del tubo diretta verso il basso. Iniziare il programma di temperatura. Quando la sostanza inizia a fondere il suo aspetto all'interno del tubo capillare cambia. Ne consegue la registrazione automatica della temperatura del blocco riscaldante a seguito delle variazioni del segnale emesso dal fotosensore che riceve la luce trasmessa (modo A, figura 2.2.60.-1), o a seguito di un processo dell'immagine (modo B, figura 2.2.60.-2).

Effettuare la determinazione su altri 2 campioni e calcolare il valore medio dei 3 risultati.



- | | |
|-------------------|-------------------------------|
| A. tubo capillare | D. sensore per la temperatura |
| B. campione | E. blocco riscaldante |
| C. fotosensore | F. sorgente luminosa |

Figura 2.2.60.-1 Modo A: trasmissione



- | | |
|-------------------------------|-----------------------|
| A. tubo capillare di vetro | E. blocco riscaldante |
| B. campione | F. sorgente luminosa |
| C. sensore di immagine | G. placca trasparente |
| D. sensore per la temperatura | |

Figura 2.2.60.-2 Modo B: riflessione

TARATURA

È necessario verificare periodicamente la scala della temperatura dell'apparecchio mediante la misura del punto di fusione di sostanze di riferimento certificate. Utilizzare tubi capillari aventi le stesse dimensioni di quelli utilizzati per la determinazione del punto di fusione (vedi Apparecchiatura).

Preparare 3 tubi capillari per ognuna delle sostanze di riferimento certificate (utilizzare almeno due sostanze di riferimento). Effettuare la determinazione e calcolare il valore medio dei 3 risultati per ogni sostanza.

CONFORMITÀ DEL SISTEMA

Oltre alla taratura, prima della misura, effettuare una verifica, utilizzando una appropriata sostanza di riferimento il cui punto di fusione sia vicino al punto di fusione previsto per la sostanza in esame.

Preparare 3 tubi capillari. Effettuare la determinazione del punto di fusione e calcolare il valore medio dei 3 risultati.

Il valore è compreso entro la tolleranza indicata sul certificato fornito con la sostanza di riferimento certificata.

2.2. FU.1. - MICROSCOPIA ELETTRONICA ANALITICA

Nei suoi schemi generali un microscopio elettronico a trasmissione è molto simile ad un microscopio ottico. Ciascuno dei due ha una sorgente di illuminazione, una o più lenti condensatore, un obiettivo e una o più lenti per ottenere l'ingrandimento finale voluto. La differenza fondamentale tra i due strumenti consiste quindi nell'impiego di un fascio di elettroni invece che della radiazione elettromagnetica visibile, il che implica tra l'altro che le lenti, nel caso del microscopio elettronico, sono rappresentate da campi magnetici o elettrostatici. I principi di funzionamento di un microscopio elettronico a trasmissione possono essere schematizzati come segue. Il fascio elettronico viene emesso dal catodo, costituito da un filamento di tungsteno portato ad alta temperatura (2600-2800 °C) e mantenuto ad un elevato potenziale negativo rispetto all'anodo posto a massa. Un elettrodo ad un potenziale negativo leggermente più alto del catodo circonda quest'ultimo ed ha la funzione di focalizzare il fascio elettronico in modo che all'uscita dall'anodo questo abbia già un buon grado di collimazione. L'intero sistema, che prende il nome di cannone elettronico, è in grado di produrre un fascio molto intenso (100-500 μ A) e collimato (diametro minimo di circa 1 μ). Il fascio passa quindi attraverso la lente condensatore che permette di variare l'in-

tensità e la divergenza dell'illuminazione incidente sull'oggetto. Il campione da osservare è posto immediatamente prima del piano focale della lente obiettivo che ne produce una immagine ingrandita sul "piano oggetto" della lente proiettore; quest'ultima forma l'immagine finale, ulteriormente ingrandita, su uno schermo fluorescente o su una lastra fotografica. Va sottolineato che nei moderni microscopi elettronici, oltre alla lente proiettore, sono montate una o due altre lenti magnetiche, le cosiddette lenti intermedie, le cui combinazioni di lunghezza focale permettono di ottenere una ampia gamma di valori dell'ingrandimento finale (da $50 \times$ a $750000 \times$). Sono inoltre presenti due lenti condensatore con le quali viene realizzato un miglior controllo della illuminazione del campione. In definitiva, la maggior parte dei microscopi elettronici dispone oggi di cinque o anche sei lenti magnetiche. La formazione di una immagine elettronica è dovuta alla diversa diffusione che subisce il fascio elettronico incidente nell'attraversare il campione. Parti del campione di spessore diverso diffondono gli elettroni in diverso grado, dando luogo a corrispondenti variazioni di contrasto sull'immagine. La capacità che hanno gli elettroni di passare attraverso il campione è comunque molto ridotta, per cui solo campioni sottilissimi, di spessore inferiore a 0,2 μ m, trasmettono un fascio elettronico sufficientemente intenso per produrre una immagine di buona qualità. Gli attuali microscopi elettronici a trasmissione dispongono della possibilità di variare il potenziale di accelerazione degli elettroni (in alcuni strumenti fino a 300 kV), in modo da ottenere lo stesso grado di contrasto sull'immagine quando sono esaminati campioni di differente spessore. Poiché la diffusione degli elettroni dipende dalla quantità di materia che incontrano sul loro percorso, il contrasto sull'immagine rispecchia null'altro che la distribuzione di materia nel campione, ove per quantità di materia si intende il prodotto della densità atomica (atomi per unità di volume dell'oggetto osservato) moltiplicato per il suo spessore. In definitiva, l'immagine elettromicroscopica fornisce informazioni sul campione che non sono direttamente paragonabili con quelle fornite da una immagine ottenuta al microscopio ottico, ove il contrasto dipende dalla composizione chimica dell'oggetto osservato piuttosto che dalla quantità di materia che lo costituisce. Opportune dotazioni accessorie rendono oggi possibile l'uso dei microscopi elettronici a trasmissione quali strumenti analitici di elevate prestazioni. In particolare, la tecnica della diffrazione degli elettroni permette di ottenere informazioni sulla struttura cristallina dei campioni, mentre la microanalisi a raggi X consente di definirne la composizione chimica con una sensibilità assai elevata.

Diffrazione elettronica

Gli elettroni diffusi in modo elastico dal campione formano, sul secondo piano focale della lente obiettivo, una figura di diffrazione; per osservarla, le lenti successive all'obiettivo la proiettano, ingrandita, sul piano di osservazione o sulla lastra fotografica. Le figure di diffrazione elettronica possono essere interpretate come sezioni del reticolo reciproco del cristallo osservato, di cui permettono di calcolare alcuni dei parametri reticolari. In particolare, dalle distanze R misurate tra i riflessi presenti sulle figure di diffrazione è semplice ottenere, mediante l'equazione:

$$1/|d|^* = L\lambda/R$$

L = lunghezza della camera di diffrazione

λ = lunghezza d'onda degli elettroni,

le dimensioni d^* del reticolo reciproco del cristallo studiato e, dalle relazioni fra reticolo diretto e reticolo reciproco, i parametri reticolari del cristallo stesso.

Microanalisi a raggi X

La microanalisi a raggi X consente di completare l'informazione ultrastrutturale con quella relativa alla composizione chimica del campione. I vari elementi che lo costituiscono possono essere infatti identificati in base alla lunghezza d'onda della radiazione X carat-

teristica emessa a seguito dell'interazione con elettroni di alta energia. Il riconoscimento e la misura della radiazione emessa dal campione possono essere effettuati mediante sistemi spettroscopici sia a dispersione di lunghezza d'onda sia a dispersione di energia. I sistemi a dispersione di lunghezza d'onda sono costituiti da uno spettrometro a cristallo e da un contatore proporzionale. Lo spettrometro a cristallo invia al contatore una radiazione di ben precisa lunghezza d'onda, mentre il contatore proporzionale ne misura l'intensità contando i fotoni della lunghezza d'onda selezionata, che arrivano in esso. Tale sistema di analisi permette di rivelare fino a 10^{-16} g per elementi con numero atomico uguale o superiore a 11 (sodio), e fino a 10^{-14} g per elementi con numero atomico inferiore. Nei sistemi a dispersione di energia viene invece utilizzato un contatore a stato solido in grado di fornire direttamente e con elevata risoluzione, un impulso di tensione proporzionale all'energia del fotone X incidente. Gli impulsi in uscita dal contatore vengono poi amplificati, digitalizzati ed immagazzinati in un analizzatore multicanale che fornisce l'intero spettro dell'emissione X del campione. Tale sistema consente un'analisi spettrale assai più rapida di quello a dispersione di lunghezza d'onda, anche se con una risoluzione (capacità di discriminare due righe dello spettro molto vicine) lievemente inferiore e con una minore sensibilità per la rivelazione degli elementi con numero atomico inferiore a 11.

2.3 Identificazione

2.3.	Identificazione.	125	2.3.3.	Identificazione delle fonotiazine mediante cromatografia su strato sottile	131
2.3.1.	Reazione di identificazione degli ioni e dei gruppi funzionali.	125	2.3.4.	Odore	131
2.3.2.	Identificazione degli oli grassi mediante cromatogra su strato sottile	130			

2.3. IDENTIFICAZIONE

2.3.1. REAZIONI DI IDENTIFICAZIONE DEGLI IONI E DEI GRUPPI FUNZIONALI

ACETATI

- Scaldare la sostanza in esame con una eguale quantità di *acido ossalico R*. Si sviluppano vapori aventi reazione acida (2.2.4), con l'odore caratteristico di acido acetico.
- Disciogliere circa 30 mg della sostanza in esame in 3 ml di *acqua R* o usare 3 ml della soluzione prescritta. Aggiungere successivamente 0,25 ml di *lantano nitrato soluzione R*, 0,1 ml di *iodio 0,05 M* e 0,05 ml di *ammoniaca diluita R2*. Scaldare all'ebollizione con precauzione. Entro pochi minuti si forma un precipitato blu o si sviluppa una colorazione blu scura.

ACETILE

Porre in un tubo da saggio di circa 18 mm di diametro esterno e 180 mm di lunghezza, circa 15 mg di sostanza in esame o la prescritta quantità, e 0,15 ml di *acido fosforico R*. Chiudere il tubo da saggio con un tappo nel quale è inserito un piccolo tubo da saggio, di circa 100 mm di lunghezza e 10 mm di diametro esterno riempito d'*acqua R*, che serve da refrigerante. All'estremità del piccolo tubo sospendere una goccia di *lantano nitrato soluzione R*. Eccetto che per sostanze difficilmente idrolizzabili mettere l'apparecchio per 5 min in un b.m. e togliere il piccolo tubo da saggio. Rimuovere la goccia e mescolarla su una piastra con 0,05 ml di *iodio 0,01 M*; aggiungere al bordo 0,05 ml di *ammoniaca diluita R2*. Dopo uno o due minuti si sviluppa nella zona di contatto delle due gocce una colorazione blu; il colore si intensifica e persiste per un breve tempo.

Nel caso di sostanze difficilmente idrolizzabili scaldare la miscela lentamente fino all'ebollizione su fiamma diretta e quindi operare secondo le indicazioni sopra riportate.

ALCALOIDI

Disciogliere in 5 ml di *acqua R* qualche milligrammo di sostanza in esame o la quantità prescritta, aggiungere *acido cloridrico diluito R* fino a reazione acida (2.2.4) e

quindi 1 ml di *potassio iodobismutato soluzione R*. Si forma immediatamente un precipitato arancio o rosso-arancio.

ALLUMINIO

Disciogliere circa 15 mg di sostanza in esame in 2 ml di *acqua R* o usare 2 ml della prescritta soluzione. Aggiungere circa 0,5 ml di *acido cloridrico diluito R* e circa 0,5 ml di *tioacetammide reattivo R*. Non si forma alcun precipitato. Aggiungere goccia a goccia *sodio idrossido soluzione diluita R*. Si forma un precipitato bianco gelatinoso che si discioglie in eccesso di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Aggiungere gradualmente *ammonio cloruro soluzione R*. Si riforma un precipitato bianco gelatinoso.

AMMINE PRIMARIE AROMATICHE

Acidificare la prescritta soluzione con *acido cloridrico diluito R* e aggiungere 0,2 ml di *sodio nitrito soluzione R*. Dopo 1 o 2 min, aggiungere 1 ml di *β-naftolo soluzione R*: si sviluppa una colorazione arancione o rossa intensa e generalmente si forma un precipitato dello stesso colore.

AMMONIO, SALI

Aggiungere 0,2 g di *magnesio ossido R* alla soluzione prescritta; far gorgogliare aria e dirigere il gas che si sviluppa sulla superficie di una miscela di 1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e 0,05 ml di *rosso metile soluzione R*: il colore dell'indicatore vira al giallo; per aggiunta di 1 ml di una soluzione, preparata di recente, di *sodio cobaltinitrito R* si forma un precipitato giallo.

AMMONIO E BASI VOLATILI, SALI

Disciogliere circa 20 mg della sostanza in esame in 2 ml di *acqua R*, o usare 2 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Riscaldando la soluzione si sviluppano vapori identificabili dall'odore e dalla reazione alcalina (2.2.4).

ANTIMONIO

Disciogliere circa 10 mg della sostanza in esame in una soluzione di 0,5 g di *potassio e sodio tartrato R*, in 10 ml di *acqua R* scaldando leggermente, e lasciar raffreddare; a 2 ml di questa soluzione aggiungere, goccia a goccia, *sodio solfuro soluzione R*: si forma un precipitato rosso-arancio solubile in *sodio idrossido soluzione diluita R*.

Reazioni di identificazione degli ioni e dei gruppi funzionali

ARGENTO

Disciogliere circa 10 mg della sostanza in esame in 10 ml di *acqua R* o usare 10 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 0,3 ml di *acido cloridrico RI*. Si forma un precipitato bianco caseoso solubile in 3 ml di *ammoniaca diluita RI*.

ARSENICO

Riscaldare a b.m. 5 ml della soluzione prescritta con un eguale volume di *ipofosforoso reattivo R*. Si forma un precipitato bruno.

BARBITURATI NON SOSTITUITI ALL'AZOTO

Disciogliere circa 5 mg della sostanza in esame in 3 ml di *metanolo R*, aggiungere 0,1 ml di una soluzione contenente 100 g/l di *cobalto nitrato R* e 100 g/l di *calcio cloruro R*. Mescolare e, agitando, aggiungere 0,1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Si forma una colorazione e un precipitato blu-violetto.

BENZOATI

- Aggiungere 0,5 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI* a 1 ml di soluzione in esame. Si forma un precipitato giallo-pallido, solubile in *etere R*.
- Porre 0,2 g della sostanza in esame, eventualmente trattata come indicato nella monografia, in una provetta. Umettare con 0,2-0,3 ml di *acido solforico R* e scaldare leggermente il fondo della provetta. Sulla parete interna si deposita un sublimato bianco.
- Disciogliere 0,5 g della sostanza in esame in 10 ml di *acqua R* o usare 10 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 0,5 ml di *acido cloridrico R*. Il precipitato ottenuto, ricristallizzato da *acqua R* calda e seccato nel vuoto, fonde (2.2.14) fra 120 °C e 124 °C.

BISMUTO

- Aggiungere 10 ml di *acido cloridrico diluito R* a 0,5 g di sostanza in esame o usare 10 ml della soluzione prescritta. Scaldare all'ebollizione per 1 min, raffreddare e, se necessario, filtrare. Aggiungere 20 ml di *acqua R* a 1 ml della soluzione ottenuta. Si forma un precipitato bianco o giallino che, per aggiunta di 0,05-0,1 ml di *sodio solfuro soluzione R*, diventa bruno.
- Aggiungere 10 ml di *acido nitrico diluito R* a circa 45 mg della sostanza in esame o usare 10 ml della soluzione prescritta; bollire per 1 min, lasciar raffreddare e, se necessario, filtrare. Aggiungere 2 ml

di una soluzione (100 g/l) di *tiourea R* a 5 ml della soluzione ottenuta. Si forma una colorazione arancione-giallastra o un precipitato arancione. Aggiungere 4 ml di una soluzione (25 g/l) di *sodio fluoruro R*. La soluzione non si decolora nei 30 min successivi.

BROMURI

- Disciogliere in 2 ml di *acqua R* una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 3 mg di ione bromuro (Br⁻), o usare 2 ml della soluzione prescritta. Acidificare con *acido nitrico diluito R* e aggiungere 0,4 ml di *argento nitrato soluzione RI*. Agitare e lasciare a riposo. Si forma un precipitato caseoso giallo pallido. Centrifugare e lavare il precipitato con 3 porzioni ciascuna di 1 ml di *acqua R*. Effettuare questa operazione rapidamente, al riparo dalla luce viva e non considerando il fatto che la soluzione sovranatante possa essere non perfettamente chiara. Sospendere il precipitato ottenuto in 2 ml di *acqua R* e aggiungere 1,5 ml di *ammoniaca R*. Il precipitato si scioglie con difficoltà.
- Introdurre in una piccola provetta una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 5 mg di ione bromuro (Br⁻) o la quantità prescritta. Aggiungere 0,25 ml di *acqua R*, circa 75 mg di *piombo diossido R*, 0,25 ml di *acido acetico R* e agitare leggermente. Asciugare la parete interna della parte superiore della provetta con carta da filtro e lasciare a riposo per 5 min. Preparare una striscia di carta da filtro di dimensioni appropriate e impregnarla, per capillarità, immergendola per una estremità, in una goccia di *fucsina decolorata soluzione R*. Introdurre immediatamente questa estremità nella provetta. A partire dalla parte inferiore della striscia impregnata si sviluppa in 10 s una colorazione violetta che si distingue nettamente dalla colorazione rossa della fucsina visibile all'estremità superiore della parte bagnata della stessa striscia.

CALCIO

- A 0,2 ml di una soluzione neutra, contenente una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 0,2 mg di ione calcio (Ca²⁺) per ml o a 0,2 ml della soluzione prescritta, aggiungere 0,5 ml di una soluzione (2 g/l) di *gliossalidrossianile R* in *alcool R*, 0,2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 0,2 ml

di sodio carbonato soluzione R. Agitare con 1-2 ml di cloroformio R e aggiungere 1-2 ml di acqua R. Lo strato cloroformico si colora in rosso.

- b) Disciogliere circa 20 mg di sostanza in esame o la quantità prescritta in 5 ml di acido acetico R. Aggiungere 0,5 ml di potassio ferrocianuro soluzione R. La soluzione resta limpida. Aggiungere circa 50 mg di ammonio cloruro R. Si forma un precipitato bianco, cristallino.

CARBONATI E BICARBONATI

Introdurre in una provetta 0,1 g della sostanza in esame e sospenderla in 2 ml di acqua R o usare 2 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 3 ml di acido acetico diluito R. Chiudere immediatamente la provetta con un tappo attraversato da un tubo di vetro piegato due volte ad angolo retto. La soluzione o sospensione diventa effervescente e sviluppa un gas inodore ed incolore.

Scaldare leggermente e far gorgogliare il gas in 5 ml di bario idrossido soluzione R. Si forma un precipitato bianco che si discioglie in un eccesso di acido cloridrico R1.

CITRATI

Disciogliere una quantità di sostanza in esame, equivalente a circa 50 mg di acido citrico in 5 ml di acqua R o usare 5 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 0,5 ml di acido solforico R e 1 ml di potassio permanganato soluzione R. Riscaldare fino a scomparsa della colorazione del permanganato. Aggiungere 0,5 ml di una soluzione (100 g/l) di sodio nitroprussiato R in acido solforico diluito R e 4 g di acido solfamminico R. Alcalinizzare aggiungendo, goccia a goccia, ammoniaca concentrata R fino a dissoluzione completa dell'acido solfamminico. L'aggiunta di un eccesso di ammoniaca concentrata R provoca la comparsa di una colorazione violacea tendente al blu-violetto.

CLORURI

- a) Disciogliere in 2 ml di acqua R una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 2 mg di ione cloruro (Cl⁻) o usare 2 ml della soluzione prescritta. Acidificare con acido nitrico diluito R e aggiungere 0,4 ml di argento nitrato soluzione R1. Agitare e lasciare a riposo. Si forma un precipitato bianco caseoso. Centrifugare e lavare il precipitato con tre porzioni, ciascuna di 1 ml, di acqua R. Effettuare questa operazione rapidamente, a riparo dalla luce viva e non considerando il fatto che la

soluzione sovrannatante possa non diventare perfettamente limpida. Sospendere il precipitato in 2 ml di acqua R e aggiungere 1,5 ml di ammoniaca R. Il precipitato si discioglie facilmente con la possibile eccezione di poche particelle grandi che si disciolgono lentamente.

- b) Introdurre in una provetta una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 15 mg di ione cloruro (Cl⁻) o alla quantità prescritta. Aggiungere 0,2 g di potassio dicromato R e 1 ml di acido solforico R. Porre sull'orlo della provetta una striscia di carta da filtro impregnata con 0,1 ml di difenilcarbazide soluzione R. La carta si colora in rosso-violetto. La carta impregnata non deve venire in contatto con il potassio dicromato.

ESTERI

Aggiungere 0,5 ml di una soluzione (70 g /l) di idrossilammina cloridrato R in metanolo R e 0,5 ml di una soluzione (100 g /l) di potassio idrossido R in alcool R a circa 30 mg della sostanza in esame o alla quantità prescritta. Scaldare all'ebollizione, raffreddare, acidificare con acido cloridrico diluito R e aggiungere 0,2 ml di ferro(-ico) cloruro soluzione R1 diluita dieci volte. Si sviluppa una colorazione rossa o rosso-bluastro.

FERRO

- a) Disciogliere una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 10 mg di ione ferro (Fe²⁺) in 1 ml di acqua R o usare 1 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 1 ml di potassio ferricianuro soluzione R. Si forma un precipitato blu, insolubile in acido cloridrico diluito R.
- b) Disciogliere una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 1 mg di ione ferro (Fe³⁺) in 30 ml di acqua R. A 3 ml di questa soluzione o a 3 ml della soluzione prescritta, aggiungere 1 ml di acido cloridrico diluito R e 1 ml di potassio tiocianato soluzione R. La soluzione si colora in rosso. Prelevare due frazioni da 1 ml della miscela; ad una aggiungere 5 ml di alcool isoamilico R o 5 ml di etere R, agitare e lasciare a riposo: la fase organica si colora in rosa; all'altra porzione aggiungere 2 ml di mercurio(-ico) cloruro soluzione R: la colorazione rossa scompare.
- c) Disciogliere in 1 ml di acqua R una quantità di sostanza in esame equivalente almeno a 1 mg di ione ferro (Fe³⁺) o usare 1 ml della prescritta soluzione. Aggiungere 1 ml di potassio ferrocianuro soluzione R. Si forma un precipitato blu, insolubile in 5 ml di acido cloridrico diluito R.

Reazioni di identificazione degli ioni e dei gruppi funzionali

FOSFATI (ORTOFOSFATI)

- a) Aggiungere 5 ml di *argento nitrato soluzione R1* a 5 ml della soluzione prescritta, neutralizzata se necessario. Si forma un precipitato giallo la cui colorazione non si modifica per ebollizione e che si scioglie per aggiunta di *ammoniaca R*.
- b) Mescolare 2 ml di *molibdovanadico reattivo R* con 1 ml della soluzione prescritta. Si forma una colorazione gialla.

IODURI

- a) Disciogliere una quantità di sostanza in esame equivalente a circa 4 mg di ione ioduro (I^-) in 2 ml di *acqua R* o usare 2 ml della soluzione prescritta. Acidificare con *acido nitrico diluito R* e aggiungere 0,4 ml di *argento nitrato soluzione R1*. Agitare e lasciare a riposo. Si forma un precipitato caseoso giallo pallido. Centrifugare e lavare il precipitato con tre porzioni, ciascuna di 1 ml, di *acqua R*. Effettuare questa operazione rapidamente, a riparo dalla luce viva e non considerando il fatto che la soluzione sovrannatante possa non diventare perfettamente limpida. Sospendere il precipitato in 2 ml di *acqua R* e aggiungere 1,5 ml di *ammoniaca R*. Il precipitato non si scioglie.
- b) Aggiungere 0,5 ml di *acido solforico diluito R*, 0,1 ml di *potassio dicromato soluzione R*, 2 ml di *acqua R* e 2 ml di *cloroformio R* a 0,2 ml di soluzione della sostanza in esame contenente circa 5 mg di ione ioduro (I^-) per millilitro o a 0,2 ml della soluzione prescritta. Agitare per qualche secondo e lasciare a riposo. La fase cloroformica si colora in violetto o in rosso-violetto.

LATTATI

Disciogliere in 5 ml di *acqua R* una quantità della sostanza in esame equivalente a circa 5 mg di acido lattico o usare 5 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 1 ml di *acqua di bromo R* e 0,5 ml di *acido fosforico diluito R*. Scaldare a b.m. fino a scomparsa della colorazione, agitando, di tanto in tanto, con una bacchetta di vetro. Aggiungere 4 g di *ammonio solfato R* e mescolare. Aggiungere goccia a goccia, senza mescolare, 0,2 ml di una soluzione (100 g/l) di *sodio nitroprussiato R* in *acido solforico diluito R* e, sempre senza mescolare, 1 ml di *ammoniaca concentrata R*. Lasciare a riposo per 30 min. Alla superficie di separazione dei due liquidi si forma un anello verde scuro.

MAGNESIO

Disciogliere circa 15 mg della sostanza in esame in 2 ml di *acqua R* o usare 2 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 1 ml di *ammoniaca diluita R1*. Si forma un precipitato bianco che si scioglie per aggiunta di 1 ml di *ammonio cloruro soluzione R*. Aggiungere 1 ml di *sodio fosfato dibasico soluzione R*. Si forma un precipitato bianco cristallino.

MERCURIO

- a) Deposare su una lamina di rame ben tersa circa 0,1 ml di una soluzione della sostanza in esame. Si forma una macchia grigia scura che diventa brillante per sfregamento. Seccare la lamina di rame e riscaldare in una provetta. La macchia scompare.
- b) Aggiungere *sodio idrossido soluzione diluita R* alla soluzione prescritta fino a reazione fortemente alcalina (2.2.4). Si forma un precipitato denso e giallo (sali mercurici).

NITRATI

Aggiungere la sostanza in esame polverizzata, in quantità equivalente a circa 1 mg di nitrato (NO_3^-) o la quantità di sostanza prescritta, ad una miscela di 0,1 ml di *nitrobenzene R* e 0,2 ml di *acido solforico R*. Lasciare a riposo per 5 min, raffreddare in acqua ghiacciata, e aggiungere lentamente, agitando, 5 ml di *acqua R* e 5 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Aggiungere 5 ml di *acetone R*. Agitare e lasciare a riposo. Lo strato superiore si colora in violetto intenso.

PIOMBO

- a) Disciogliere circa 0,1 g della sostanza in esame in 1 ml di *acido acetico R* o usare 1 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 2 ml di *potassio cromato soluzione R*. Si forma un precipitato giallo, solubile in 2 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*.
- b) Disciogliere 50 mg della sostanza in esame in 1 ml di *acido acetico R* o usare 1 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 10 ml di *acqua R* e 0,2 ml di *potassio ioduro soluzione R*. Si forma un precipitato giallo. Scaldare all'ebollizione per 1-2 min. Il precipitato si scioglie. Lasciare raffreddare. Il precipitato ricompare sotto forma di lamine gialle brillanti.

POTASSIO

- a) Disciogliere 0,1 g della sostanza in esame in 2 ml di *acqua R* o usare 2 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 1 ml di *sodio carbonato soluzione R* e riscaldare. Non si forma alcun precipitato. Aggiungere 0,05 ml di *sodio solfuro soluzione R* alla soluzione calda. Non si forma alcun precipitato. Raffreddare in acqua ghiacciata, aggiungere 2 ml di una soluzione (150 g/l) di *acido tartarico R* e lasciare a riposo. Si forma un precipitato bianco cristallino.
- b) Disciogliere circa 40 mg della sostanza in esame in 1 ml di *acqua R* o usare 1 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 1 ml di *acido acetico diluito R* e 1 ml di una soluzione (100 g/l) di *sodio cobaltinitrito R* preparata al momento dell'uso. Si forma subito un precipitato giallo o giallo aranciato.

di *potassio piroantimoniato soluzione R* e scaldare all'ebollizione. Lasciar raffreddare in acqua ghiacciata e sfregare, se necessario, le pareti della provetta con una bacchetta di vetro. Si forma un precipitato bianco e pesante.

- b) Disciogliere una quantità della sostanza in esame equivalente a circa 2 mg di ione sodio (Na^+) in 0,5 ml di *acqua R* o usare 0,5 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 1,5 ml di *metossifenilacetico reattivo R* e raffreddare in acqua ghiacciata per 30 min. Si forma un precipitato cristallino, bianco, voluminoso. Porre in acqua a 20 °C e agitare per 5 min. Il precipitato non si scioglie. Aggiungere 1 ml di *ammoniaca diluita RI*. Il precipitato si scioglie completamente. Aggiungere 1 ml di *ammonio carbonato soluzione R*. Non si forma alcun precipitato.

SALICILATI

- a) Aggiungere 0,5 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI* a 1 ml della soluzione prescritta. Si forma una colorazione violetta che persiste dopo aggiunta di 0,1 ml di *acido acetico R*.
- b) Disciogliere 0,5 g della sostanza in esame in 10 ml di *acqua R* o usare 10 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 0,5 ml di *acido cloridrico R*. Il precipitato cristallino bianco ottenuto dopo cristallizzazione da *acqua R* calda ed essiccamento, ha un punto di fusione (2.2.14) compreso nel vuoto fra 156 °C e 161 °C.

SOLFATI

- a) Disciogliere circa 45 mg della sostanza in esame in 5 ml di *acqua R* o usare 5 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 1 ml di *acido cloridrico diluito R* e 1 ml di *bario cloruro soluzione RI*. Si forma un precipitato bianco.
- b) Aggiungere 0,1 ml di *iodio 0,05 M* alla sospensione ottenuta durante la reazione precedente (a). La sospensione resta gialla (distinzione dai solfiti e ditioniti) ma si decolora per aggiunta, goccia a goccia, di *stagno(-oso) cloruro soluzione R* (distinzione dagli iodati). Scaldare all'ebollizione la miscela. Non si forma alcun precipitato colorato (distinzione dai seleniati e dai tungstati).

SILICATI

In un crogiolo di piombo o di platino mescolare, con un filo di rame, la quantità prescritta della sostanza in esame con circa 10 mg di *sodio fluoruro R* e qualche goccia di *acido solforico R*, in modo da formare un impasto fluido. Coprire il crogiolo con una lamina sottile di plastica trasparente nella cui faccia inferiore sia sospesa una goccia di *acqua R* e scaldare leggermente. Attorno alla goccia di acqua si forma rapidamente un anello bianco.

TARTRATI

SODIO

- a) Disciogliere 0,1 g di sostanza in esame in 2 ml di *acqua R* o usare 2 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 2 ml di una soluzione (150 g/l) di *potassio carbonato R* e scaldare all'ebollizione. Non si forma alcun precipitato. Aggiungere 4 ml

- a) Disciogliere circa 15 mg della sostanza in esame in 5 ml di *acqua R* o usare 5 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 0,05 ml di una soluzione (10 g/l) di *ferro(-oso) solfato R* e 0,05 ml di *idrogeno perossido soluzione diluita R*. Si forma una colorazione gialla che svanisce rapidamente. Quando questa colorazione è svanita aggiungere, goccia a goccia, *sodio idrossido soluzione diluita R*. Si sviluppa una colorazione violetta o porpora.
- b) Aggiungere 0,1 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio bromuro R*, 0,1 ml di una soluzione (20 g/l) di *resorcinolo R* e 3 ml di *acido solforico R* a 0,1 ml della soluzione della sostanza in esame contenente una quantità di sostanza, equivalente a circa 15 mg di acido tartarico per millilitro o a

Identificazione degli oli grassi mediante cromatografia su strato sottile

0,1 ml della soluzione prescritta. Scaldare a b.m. per 5-10 min. Si forma, a caldo, una colorazione blu scura. Lasciar raffreddare e diluire la soluzione con *acqua R*. Il colore vira al rosso.

XANTINE

Aggiungere 0,1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R* e 0,3 ml di *acido cloridrico diluito R* a pochi milligrammi della sostanza in esame o alla quantità prescritta. Evaporare a secco a b.m. fino ad ottenere un residuo rosso-giallastro. Aggiungere 0,1 ml di *ammoniaca diluita R* 2. Il colore del residuo vira al rosso-violetto.

ZINCO

Disciogliere circa 0,1 g della sostanza in esame in 5 ml di *acqua R* o usare 5 ml della soluzione prescritta. Aggiungere 0,2 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Si forma un precipitato bianco che si scioglie per aggiunta di 2 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Aggiungere 10 ml di *ammonio cloruro soluzione R*. La soluzione resta limpida. Aggiungere 0,1 ml di *sodio solfuro soluzione R*. Si forma un precipitato bianco fioccoso.

2.3.2. IDENTIFICAZIONE DEGLI OLI GRASSI MEDIANTE CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di un adeguato gel di silice ottadecilsililato per cromatografia su strato sottile ad alta efficienza.

Soluzione in esame. Se non diversamente prescritto, disciogliere circa 20 mg (una goccia) dell'olio grasso in 3 ml di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere circa 20 mg (una goccia) di *olio di mais R* in 3 ml di *diclorometano R*.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire due volte per un percorso di 0,5 cm usando *etere R*. Eluire due volte per un percorso di 8 cm, usando una miscela di 20 volumi di *diclorometano R*, 40 volumi di *acido acetico glaciale R* e 50 volumi di *acetone R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con una soluzione (100 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *alcool R*. Scaldare la lastra a 120 °C per circa 3 min ed esaminare alla luce del giorno.

Il cromatogramma ottenuto presenta delle macchie caratteristiche paragonabili a quelle in Figura 2.3.2.-1.

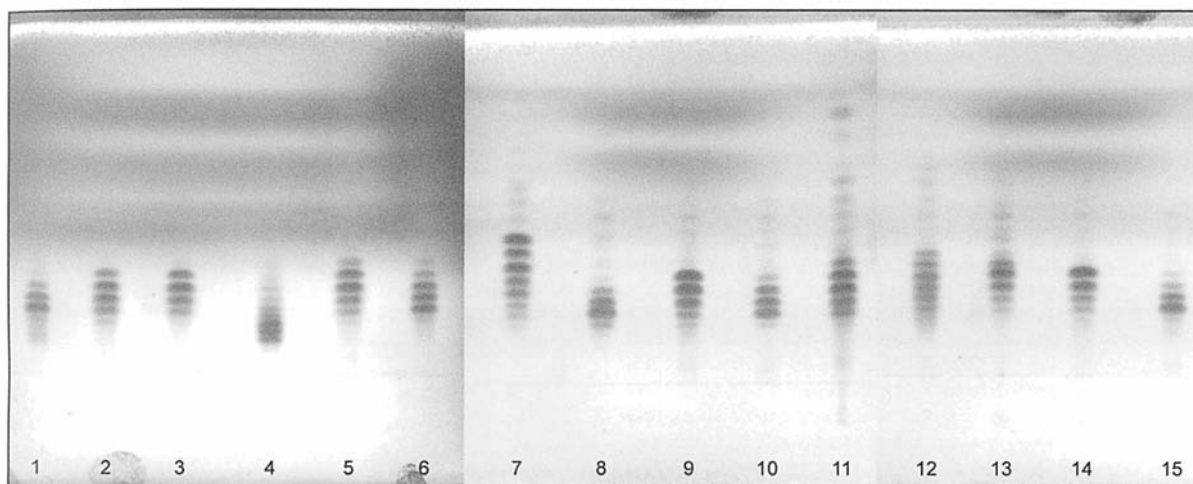


Figura 2.3.2.-1.- Cromatogrammi caratteristici per l'identificazione degli oli grassi

- | | | |
|-------------------------|--|--------------------------------|
| 1. Olio di arachidi | 6. Olio di colza (esente da acido erucico) | 11. Olio di germe di grano |
| 2. Olio di sesamo | 7. Olio di semi di lino | 12. Olio di borragine |
| 3. Olio di mais | 8. Olio di oliva | 13. Olio di primula della sera |
| 4. Olio di colza | 9. Olio di semi di girasole | 14. Olio di cartamo (tipo I) |
| 5. Olio di semi di soia | 10. Olio di mandorla | 15. Olio di cartamo (tipo II) |

2.3.3. IDENTIFICAZIONE DELLE FENOTIAZINE MEDIANTE CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *kieselguhr G R* come sostanza di rivestimento. Impregnare la lastra ponendola nella vasca chiusa contenente una quantità sufficiente della miscela impregnante costituita da una soluzione contenente il 10 per cento *V/V* di *fenossietanolo R* e 50 g/l di *polietilenglicole 300 R* in *acetone R*, in modo che sia immersa per circa 5 mm. Quando la linea del fronte della miscela di impregnazione ha percorso una distanza di almeno 17 cm, estrarre la lastra e usarla immediatamente per la cromatografia. Effettuare la cromatografia nella stessa direzione dell'impregnazione.

Soluzione in esame. Disciogliere 20 mg della sostanza in esame in *cloroformio R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg della corrispondente sostanza chimica di riferimento (SCR) in *cloroformio R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed eluire al buio per un percorso di 15 cm usando una miscela di 50 ml di *etere di petrolio R* e

1 ml di *dietilammina R*, saturata con *fenossietanolo R* (per es. aggiungere circa da 3 a 4 ml di *fenossietanolo R* alla suddetta miscela di solventi fino ad intorbidamento persistente anche dopo agitazione; decantare ed utilizzare il liquido sovrantante, anche se torbido). Esporre la lastra alla luce ultravioletta di 365 nm ed esaminarla dopo qualche minuto. La macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, fluorescenza e dimensione alla macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Spruzzare con una soluzione (10 per cento *V/V*) di *acido solforico R* in *alcool R*. La macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame ha lo stesso colore di quella nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Le due macchie, osservate per almeno 20 min, presentano la stessa stabilità.

2.3.4. ODORE

Deporre 0,5 - 2,0 g della sostanza in esame come strato sottile, su un vetrino da orologio da 6 cm a 8 cm di diametro. Dopo 15 min, determinare l'odore o verificarne l'assenza.

2.4 Saggi limite

2.4.	Saggi limite	135	2.4.21.	Oli estranei negli oli grassi mediante cromatografia su strato sottile.	144
2.4.1.	Ammonio	135	2.4.22.	Composizione in acidi grassi mediante gas cromatografia	145
2.4.2.	Arsenico	135	2.4.23.	Steroli negli oli grassi	148
2.4.3.	Calcio	136	2.4.24.	Identificazione e controllo dei solventi residui	150
2.4.4.	Cloruri	136	2.4.25.	Etilene ossido e diossano	156
2.4.5.	Fluoruri	136	2.4.26.	<i>N,N</i> -Dimetilnilina	157
2.4.6.	Magnesio	137	2.4.27.	Metalli pesanti nelle droghe vegetali e negli oli grassi	158
2.4.7.	Magnesio e metalli alcalino terrosi	137	2.4.28.	Acido 2-etilesanoico	159
2.4.8.	Metalli pesanti	137	2.4.29.	Composizione in acidi grassi degli oli ricchi di acidi Omega-3	160
2.4.9.	Ferro	141	2.4.30.	Glicole etilenico e glicole dietilenico nelle sostanze etossilate	162
2.4.10.	Piombo negli zuccheri	141	2.4.31.	Nichel negli oli vegetali idrogenati	163
2.4.11.	Fosfati	142	2.4.32.	Colesterolo totale negli oli ricchi in acidi Omega-3	163
2.4.12.	Potassio	142			
2.4.13.	Solfati	142			
2.4.14.	Ceneri solforiche	142			
2.4.15.	Nichel nei polioli	142			
2.4.16.	Ceneri totali	143			
2.4.17.	Alluminio	143			
2.4.18.	Formaldeide libera	143			
2.4.19.	Impurezze alcaline negli oli grassi	144			

2.4. SAGGI LIMITE

2.4.1. AMMONIO

Salvo diversa indicazione utilizzare il metodo A.

METODO A

Disciogliere in 14 ml di *acqua R* contenuta in una provetta la quantità prescritta della sostanza in esame, alcalinizzare, se necessario, con *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluire a 15 ml con *acqua R*. Aggiungere alla soluzione 0,3 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*. Preparare una soluzione di riferimento mescolando 5 ml di *acqua R*, 0,3 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R* e 10 ml di *soluzione standard di ammonio (NH_4 1 ppm) R*. Chiudere le provette.

Dopo 5 min, l'eventuale colorazione gialla della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

METODO B

Introdurre in una beuta da 25 ml con tappo in polietilene la prescritta quantità della sostanza in esame finemente polverizzata e discioglierla o sospenderla in 1 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,30 g di *magnesio ossido pesante R*. Chiudere immediatamente dopo aver posto sotto il tappo un quadrato di 5 mm di *argento manganese cartina R* impregnato con poche gocce di *acqua R*. Agitare con movimento rotatorio evitando fuoruscite di liquido e lasciare a riposo a 40 °C per 30 min. Se l'*argento manganese cartina R* presenta una colorazione grigia, essa non è più intensa di quella prodotta su un eguale quadrato di *argento manganese cartina R* trattato nello stesso modo utilizzando una soluzione di riferimento, preparata contemporaneamente e nelle stesse condizioni con il prescritto volume di *soluzione standard di ammonio (NH_4 1 ppm) R*, 1 ml di *acqua R* e 0,30 g di *magnesio ossido pesante R*.

2.4.2. ARSENICO

METODO A

L'apparecchio (vedi Figura 2.4.2.-1) è costituito da una beuta da 100 ml chiusa con un tappo a smeriglio, munito di un tubo di vetro lungo circa 200 mm e del diametro interno di 5 mm. La parte inferiore del tubo è affilata in modo che il diametro interno sia di 1,0 mm; 15 mm al di sopra della sua estremità, il tubo presenta un foro laterale del diametro di 2-3 mm. Quando il tubo viene posizionato nel tappo, il foro laterale si dovrebbe trovare almeno 3 mm al di sotto della superficie inferiore del tappo. La parte superiore del

tubo ha una superficie smerigliata perfettamente piana, perpendicolare all'asse del tubo. Un secondo tubo di vetro, dello stesso diametro interno e lungo 30 mm con una simile superficie piana smerigliata, viene posto a contatto con il primo e tenuto fermo con due molle. Inserire nel tubo inferiore 50-60 mg di *piombo acetato cotone R* senza comprimere o un piccolo tampone di cotone e una porzione arrotolata di *piombo acetato cartina R*, di 50-60 mg. Tra le due superfici piane dei tubi porre un disco o un piccolo quadrato di *mercurio(-ico) bromuro cartina R* sufficiente a coprire l'orifizio del tubo (15 mm × 15 mm).

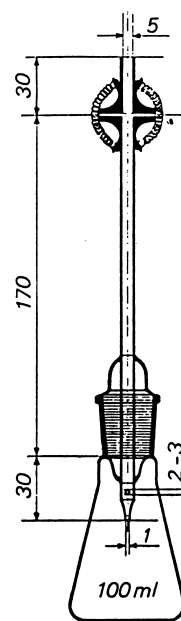


Figura 2.4.2.-1. - Apparecchio per il saggio limite A per l'arsenico
Dimensioni in millimetri

Nella beuta disciogliere in 25 ml di *acqua R* la prescritta quantità della sostanza in esame o nel caso di una soluzione, aggiustare il prescritto volume a 25 ml con *acqua R*. Aggiungere 15 ml di *acido cloridrico R*, 0,1 ml di *stagno(-oso) cloruro soluzione R* e 5 ml di *potassio ioduro soluzione R*, lasciare a riposo per 15 min ed introdurre 5 g di *zinco attivato R*. Riunire immediatamente le due parti dell'apparecchio ed immergere la beuta in un bagno ad acqua ad una temperatura che permetta al gas di svilupparsi uniformemente. Preparare una soluzione di riferimento nello stesso modo, utilizzando 1 ml di *soluzione standard di arsenico (As 1 ppm) R*, diluita a 25 ml con *acqua R*.

Dopo almeno 2 h, la macchia eventualmente formatasi sulla carta di mercurio bromuro utilizzato per la soluzione in esame non è più intensa di quella ottenuta sulla carta utilizzata per la soluzione di riferimento.

METODO B

Introdurre la prescritta quantità della sostanza in esame in una provetta contenente 4 ml di *acido cloridrico R* e circa 5 mg di *potassio ioduro R* ed aggiungere 3 ml di *ipofosforoso reattivo R*. Scaldare la miscela a b.m. per 15 min., agitandola di tanto in tanto. Preparare una soluzione di riferimento (lo standard) nello stesso modo, utilizzando 0,5 ml di *soluzione standard di arsenico (As 10 ppm) R*.

Dopo il riscaldamento a b.m. l'eventuale colorazione della soluzione della sostanza in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.3. CALCIO

Tutte le soluzioni usate in questo saggio devono essere preparate con acqua distillata R.

Aggiungere 1 ml di *ammonio ossalato soluzione R* a 0,2 ml di *soluzione alcoolica standard di calcio (Ca 100 ppm) R*. Dopo 1 min, aggiungere una miscela di 1 ml di *acido acetico diluito R* e 15 ml di soluzione contenente la prescritta quantità della sostanza in esame ed agitare. Preparare una soluzione di riferimento, nello stesso modo utilizzando una miscela di 10 ml di *soluzione acquosa standard di calcio (Ca 10 ppm) R*, 1 ml di *acido acetico diluito R* e 5 ml di *acqua R* distillata.

Dopo 15 min l'eventuale opalescenza nella soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.4. CLORURI

Aggiungere 1 ml di *acido nitrico diluito R* a 15 ml della prescritta soluzione e versare la miscela, in una sola volta, in una provetta contenente 1 ml di *argento nitrato soluzione R2*. Preparare una soluzione di riferimento nello stesso modo utilizzando 10 ml di *soluzione standard di cloruro (Cl 5 ppm) R* e 5 ml di *acqua R*. Osservare le provette lateralmente su fondo nero.

Dopo riposo per 5 min al riparo dalla luce, l'eventuale opalescenza nella soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.5. FLUORURI

Introdurre nel tubo interno dell'apparecchio (vedi Figura 2.4.5.-1) la prescritta quantità di sostanza in esame, 0,1 g di *sabbia R* lavata con acido e 20 ml di una miscela di uguali volumi di *acido solforico R* ed *acqua R*. Scaldare la guaina esterna del tubo contenente *tetracloroetano R*, e mantenere alla temperatura di

ebollizione (146 °C). Scaldare il generatore di vapore d'acqua e distillare raccogliendo il distillato in una beuta da 100 ml contenente 0,3 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 0,1 ml di *fenolftaleina soluzione R*. Mantenere un volume costante (20 ml) nel tubo durante la distillazione ed assicurarsi che il distillato resti alcalino aggiungendo, se necessario, *sodio idrossido 0,1 M*. Diluire il distillato a 100 ml con *acqua R* (soluzione in esame). Preparare per distillazione nello stesso modo, una soluzione di riferimento sostituendo la sostanza in esame con 5 ml di *soluzione standard di fluoruro (F 10 ppm) R*. Introdurre in due cilindri con tappo a smeriglio, 20 ml della soluzione in esame, 20 ml della soluzione di riferimento e 5 ml di *acido aminometilalzarindiacetico reattivo R*.

Dopo 20 min l'eventuale colorazione blu della soluzione in esame (all'inizio colorata in rosso) non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

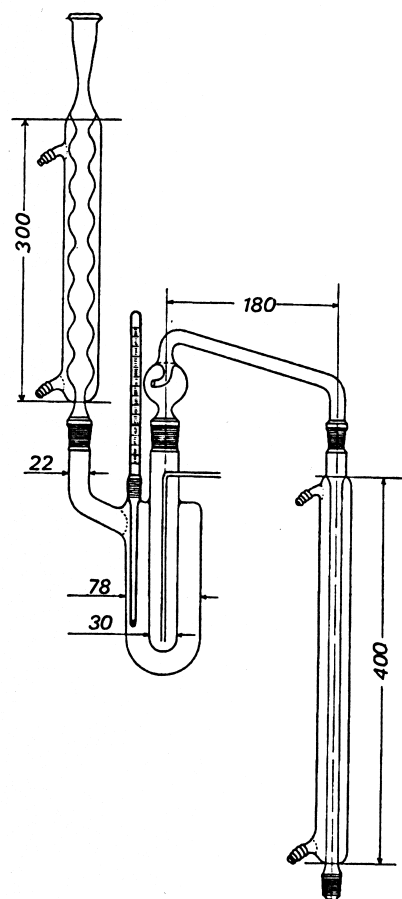


Figura 2.4.5.- 1.- *Apparecchio per il saggio limite dei fluoruri*
Dimensioni in millimetri

2.4.6. MAGNESIO

Aggiungere 0,1 g di *disodio tetraborato R* a 10 ml della prescritta soluzione aggiustando il pH della soluzione, se necessario, tra 8,8 e 9,2 con *acido cloridrico diluito R* o *sodio idrossido soluzione diluita R*. Agitare con due porzioni, ciascuna di 5 ml, di una soluzione (1 g/l) di *idrossichinolina R* in *cloroformio R* per 1 min ogni volta. Lasciare a riposo, separare ed eliminare la fase organica. Alla soluzione acquosa aggiungere 0,4 ml di *butilammina R* e 0,1 ml di *trietanolamina R*. Aggiustare il pH della soluzione, se necessario, tra 10,5 e 11,5. Aggiungere 4 ml della soluzione cloroformica di idros-sichinolina, agitare per 1 min, lasciare a riposo e separare. Per il confronto utilizzare la fase inferiore. Preparare una soluzione di riferimento nello stesso modo utilizzando una miscela di 1 ml di *soluzione standard di magnesio (Mg 10 ppm) R* e 9 ml di *acqua R*.

L'eventuale colorazione della soluzione ottenuta dalla sostanza in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.7. MAGNESIO E METALLI ALCALINO TERROSI

Aggiungere 0,1 g di *idrossilammina cloridrato R*, 10 ml di *tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0 R*, 1 ml di *zinco solfato 0,1 M* e circa 15 mg di *nero mordente 11 miscela composta R* a 200 ml di *acqua R*. Scaldare a circa 40 °C e titolare con *sodio edetato 0,01 M* fino al viraggio dal violetto a blu netto. A questa soluzione aggiungere la prescritta quantità della sostanza in esame disciolta in 100 ml di *acqua R* o usare la prescritta soluzione. Se la colorazione della soluzione vira al violetto, titolare con *sodio edetato 0,01 M* fino a ricomparsa della colorazione blu netta.

Il volume di *sodio edetato 0,01 M* utilizzato nella seconda titolazione non deve eccedere la prescritta quantità.

2.4.8. METALLI PESANTI

I metodi descritti di seguito richiedono l'uso di *tioacetammide reattivo R*. In alternativa è generalmente appropriato il *sodio solfuro soluzione R1* (0,1 ml).

Considerato che i saggi prescritti nelle monografie sono stati sviluppati utilizzando *tioacetammide reattivo R*, qualora venga utilizzato il *sodio solfuro soluzione R1*, è necessario disporre anche per i saggi A e B di una soluzione di controllo preparata a partire dalla quantità della sostanza in esame prescritta per il saggio, alla quale è stato aggiunto il volume di soluzione standard di piombo prescritta per la preparazione della soluzione di riferimento. Il saggio non è valido se la soluzione di controllo non è comparabile, in relazione all'intensità della colorazione, con la soluzione di riferimento.

METODO A

Soluzione in esame. 12 ml della prescritta soluzione acquosa della sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Una miscela di 10 ml di *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm o 2 ppm) R*, come prescritto, e 2 ml della prescritta soluzione acquosa della sostanza in esame.

Soluzione del bianco. Una miscela di 10 ml di *acqua R* e 2 ml della prescritta soluzione acquosa della sostanza in esame.

A ciascuna soluzione, aggiungere 2 ml di *tampone soluzione a pH 3,5 R*. Mescolare e aggiungere a 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R* mescolando immediatamente. Esaminare le soluzioni dopo 2 min. Il saggio non è valido se la soluzione di riferimento, in confronto con il bianco, non presenta una leggera colorazione bruna. La sostanza in esame è conforme al saggio se l'eventuale colorazione bruna della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

Se il risultato del saggio è difficile da valutare, filtrare la soluzione su un filtro a membrana (diametro dei pori 3 µm; vedere fig. 2.4.8.-1, senza prefiltrato). Effettuare la filtrazione lentamente e regolarmente applicando una pressione moderata e costante sul pistone. Comparare le macchie ottenute sui filtri con le diverse soluzioni.

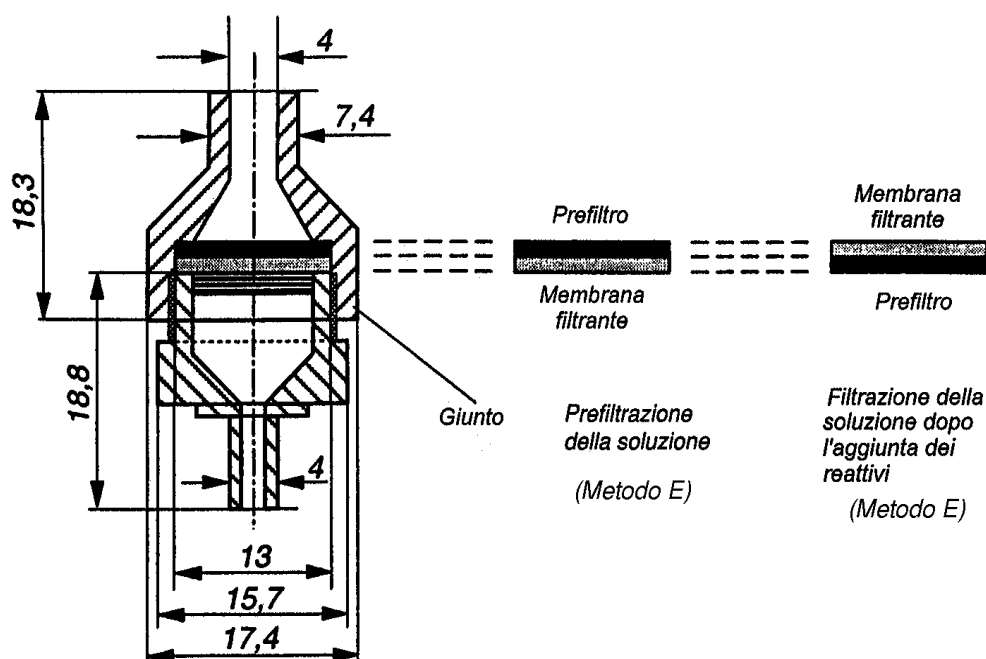


Figura 2.4.8.-1. - Apparecchiatura per il saggio per i metalli pesanti
Dimensioni in millimetri

METODO B

Soluzione in esame. 12 ml della prescritta soluzione della sostanza in esame preparata usando un solvente organico contenente una minima percentuale di acqua (per esempio diossano contenente il 15 per cento di acqua o acetone contenente il 15 per cento di acqua).

Soluzione di riferimento. Una miscela di 10 ml di *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm o 2 ppm) R*, come prescritto, e 2 ml della prescritta soluzione della sostanza in esame in un solvente organico. Preparare la soluzione standard di piombo (1 ppm o 2 ppm) diluendo la *soluzione standard di piombo (Pb 100 ppm) R* con il solvente usato per la sostanza in esame.

Soluzione del bianco. Una miscela di 10 ml del solvente usato per la sostanza in esame e 2 ml della prescritta soluzione della sostanza in esame nel solvente organico.

A ciascuna soluzione, aggiungere 2 ml di *tampone soluzione a pH 3,5 R*. Mescolare e aggiungere a 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R* mescolando immediatamente. Esaminare le soluzioni dopo 2 min. Il saggio non è valido se la soluzione di riferimento, in confronto con il bianco, non presenta una leggera colorazione bruna. La sostanza in esame è conforme al saggio se l'eventuale colorazione bruna della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

Se il risultato è difficile da valutare, filtrare la soluzione su un filtro a membrana (diametro dei pori 3 µm; vedere fig. 2.4.8.-1, senza prefiltro). Effettuare la filtrazione lentamente e regolarmente applicando una pressione moderata e costante sul pistone. Comparare le macchie ottenute sui filtri con le diverse soluzioni.

METODO C

Soluzione in esame. Introdurre la prescritta quantità della sostanza in esame (2 g al massimo) in un crogiolo di silice con 4 ml di una soluzione (250 g/l) di *magnesio solfato R* in *acido solforico diluito R*. Mescolare con una bacchetta di vetro e scaldare con precauzione. Se la miscela è liquida, evaporare lentamente a secco a b.m. Progressivamente scaldare fino a carbonizzare e continuare fino ad ottenere un residuo quasi bianco o al massimo grigiastro. Effettuare la calcinazione ad una temperatura non superiore a 800 °C. Lasciar raffreddare, umettare il residuo con alcune gocce di *acido solforico diluito R*, evaporare, calcinare di nuovo e lasciar raffreddare. Il periodo totale di calcinazione non deve essere superiore a 2 h. Riprendere il residuo per due volte con 5 ml di *acido cloridrico diluito R*. Aggiungere 0,1 ml di *fenoltaleina soluzione R* e poi *ammoniaca concentrata R* fino ad ottenere una colora-

zione rosa. Raffreddare, aggiungere *acido acetico glaciale R* fino a decolorazione ed ancora 0,5 ml in eccesso. Se necessario filtrare e lavare il filtro ed infine diluire a 20 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Procedere come descritto per la soluzione in esame, utilizzando il prescritto volume di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* al posto della sostanza in esame. A 10 ml della soluzione ottenuta aggiungere 2 ml della soluzione in esame.

Soluzione di controllo. Procedere come descritto per la soluzione in esame, aggiungendo alla sostanza in esame il volume di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* prescritto per la preparazione della soluzione di riferimento. A 10 ml della soluzione ottenuta aggiungere 2 ml della soluzione in esame.

Soluzione del bianco. Una miscela di 10 ml di *acqua R* e 2 ml della soluzione in esame.

A 12 ml di ciascuna soluzione, aggiungere 2 ml di *tampone soluzione a pH 3,5 R*. Mescolare e aggiungere a 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R* e mescolare immediatamente. Esaminare le soluzioni dopo 2 min.

Il saggio non è valido se la soluzione di riferimento non presenta una leggera colorazione bruna confrontata con il bianco o se la soluzione di controllo non è comparabile, in relazione all'intensità della colorazione, alla soluzione di riferimento. La sostanza in esame è conforme al saggio se l'eventuale colorazione bruna della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento. Se il risultato del saggio è difficile da valutare, filtrare la soluzione su un filtro a membrana (diametro dei pori 3 µm; vedere fig. 2.4.8.-1, senza prefiltro). Effettuare la filtrazione lentamente e regolarmente applicando una pressione moderata e costante sul pistone. Comparare le macchie ottenute sui filtri con le diverse soluzioni.

METODO D

Soluzione in esame. In un crogiolo di silice mescolare intimamente 0,5 g di *magnesio ossido R1* con la prescritta quantità della sostanza in esame. Calcinare al rosso fino ad ottenere una massa omogenea, da bianca a bianco-grigiastro. Se dopo 30 min di calcinazione la miscela resta colorata, lasciar raffreddare, mescolare con una bacchetta di vetro e ripetere la calcinazione. Se necessario ripetere l'operazione. Scaldare a 800 °C per circa 1 h. Riprendere il residuo con due porzioni, ciascuna di 5 ml, di una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico R1* ed *acqua R*. Aggiungere 0,1 ml di *fenoltaleina soluzione R* e poi *ammoniaca concentrata R* fino ad ottenere una colorazione rosa. Raffreddare,

aggiungere *acido acetico glaciale R* fino a decolorazione e ancora 0,5 ml in eccesso. Se necessario filtrare, lavare il filtro ed infine diluire a 20 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Procedere come descritto per la soluzione in esame, utilizzando il prescritto volume di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* al posto della sostanza in esame ed essiccare in stufa a 100-105 °C. A 10 ml della soluzione ottenuta aggiungere 2 ml della soluzione in esame.

Soluzione di controllo. Procedere come descritto per la soluzione in esame, aggiungendo alla sostanza in esame il volume di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* prescritto per la preparazione della soluzione di riferimento ed essiccare in stufa a 100-105 °C. A 10 ml della soluzione ottenuta aggiungere 2 ml della soluzione in esame.

Soluzione del bianco. Una miscela di 10 ml di *acqua R* e 2 ml della soluzione in esame.

A 12 ml di ciascuna soluzione, aggiungere 2 ml di *tampone soluzione a pH 3,5 R*. Mescolare e aggiungere a 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R* e mescolare immediatamente. Esaminare le soluzioni dopo 2 min. Il saggio non è valido se la soluzione di riferimento non presenta una leggera colorazione bruna confrontata con il bianco o se la soluzione di controllo non è comparabile, in relazione all'intensità della colorazione, alla soluzione di riferimento. La sostanza in esame è conforme al saggio se l'eventuale colorazione bruna della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento. Se il risultato del saggio è difficile da valutare, filtrare la soluzione su un filtro a membrana (diametro dei pori 3 µm; vedere fig. 2.4.8.-1, senza prefiltro). Effettuare la filtrazione lentamente e regolarmente applicando una pressione moderata e costante sul pistone. Comparare le macchie ottenute sui filtri con le diverse soluzioni.

METODO E

Soluzione in esame. Disciogliere la prescritta quantità della sostanza in esame in 30 ml di *acqua R* o nel volume indicato.

Soluzione di riferimento. Salvo indicazioni contrarie, utilizzare il prescritto volume di *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R* e diluire allo stesso volume della soluzione in esame.

Preparare l'apparecchio di filtrazione adattando l'imboccatura di una siringa da 50 ml, senza il pistone, ad un supporto contenente sulla placca una membrana filtrante (porosità 3 µm) e al di sopra un prefiltro (vedi figura 2.4.8.-1)

Trasferire la soluzione in esame nel corpo della siringa, inserire il pistone e comprimerla regolarmente fino a

filtrazione completa. Aprire il supporto, togliere il pre-filtro e verificare che sulla membrana filtrante non vi siano impurezze, altrimenti sostituirla e ripetere l'operazione nelle stesse condizioni.

Aggiungere 2 ml di *tampone soluzione a pH 3,5 R* e 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R* al prefiltrato o al prescritto volume di prefiltrato. Mescolare e aggiungere a 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R*. Mescolare, lasciare a riposo per 10 min e filtrare di nuovo, come descritto precedentemente, ma invertendo l'ordine dei filtri, in modo che il liquido attraversi la membrana filtrante prima del prefiltrato (vedi Figura 2.4.8.-1). La filtrazione deve essere effettuata lentamente e uniformemente premendo leggermente, ma in maniera costante, sul pistone della siringa. Dopo filtrazione completa aprire il supporto, rimuovere la membrana filtrante ed asciugare con carta da filtro. In parallelo, trattare la soluzione di riferimento nella stessa maniera della soluzione in esame.

La colorazione della macchia ottenuta con la soluzione in esame non è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento.

METODO F

Soluzione in esame. Introdurre la quantità prescritta o il volume della sostanza in esame in un matraccio per la mineralizzazione da 100 ml, pulito ed asciutto (può essere usato un matraccio da 300 ml se la reazione provoca una schiuma abbondante). Fissare il matraccio ad un angolo di 45°. Se la sostanza in esame è solida aggiungere un volume di una miscela di 8 ml di *acido solforico R* e 10 ml di *acido nitrico R* sufficiente ad umettare accuratamente la sostanza; se la sostanza in esame è un liquido, aggiungere alcuni millilitri di una miscela di 8 ml di *acido solforico R* e 10 ml di *acido nitrico R*. Scaldare leggermente fino a quando inizia la reazione; lasciare svolgere la reazione ed aggiungere ulteriori porzioni della stessa miscela di acidi, scaldare dopo ogni aggiunta, fino a che è stato aggiunto un totale di 18 ml della miscela di acidi. Aumentare la temperatura e bollire leggermente fino a che la soluzione scurisce. Raffreddare, aggiungere 2 ml di *acido nitrico R* e scaldare di nuovo fino a che la soluzione scurisce. Continuare il riscaldamento seguito dall'aggiunta di *acido nitrico R* fino a che la soluzione non scurisce più; poi scaldare fortemente fino alla comparsa di fumi bianchi e densi. Raffreddare, aggiungere con cautela 5 ml di *acqua R*, bollire leggermente fino a comparsa di fumi bianchi e densi e continuare a riscaldare per ridurre il volume della soluzione a 2-3 ml. Raffreddare, aggiungere con cautela 5 ml di *acqua R* ed esaminare il colore della solu-

zione. Se la soluzione è gialla aggiungere con cautela 1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R* ed evaporare di nuovo fino a comparsa di fumi bianchi e densi ed a ridurre il volume della soluzione a 2-3 ml. Se la soluzione è ancora gialla, ripetere l'aggiunta di 5 ml *acqua R* e 1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R* fino a che la soluzione diventa incolore. Raffreddare, diluire con cautela con *acqua R* e trasferire, lavando, in un tubo da 50 ml per il confronto del colore, assicurandosi che il volume finale non sia superiore a 25 ml. Usando una cartina indicatrice con breve intervallo di pH, portare il pH della soluzione a 3,0-4,0 con *ammoniaca concentrata RI* (se si desidera si può usare *ammoniaca diluita RI* qualora ci si avvicini all'intervallo specificato), diluire a 40 ml con *acqua R* e mescolare. Aggiungere 2 ml di *tampone soluzione a pH 3,5 R*; mescolare e aggiungere a 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R*. Mescolare immediatamente. Diluire a 50 ml con *acqua R* e mescolare.

Soluzione di riferimento. Preparare una soluzione di riferimento nello stesso modo e nello stesso momento della soluzione in esame usando il volume prescritto di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*.

Soluzione di controllo. Procedere come descritto per la soluzione in esame, aggiungendo alla sostanza da esaminare il volume di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* prescritto per la preparazione della soluzione di riferimento.

Soluzione del bianco. Procedere come descritto per la soluzione in esame ma omettendo la sostanza da esaminare.

Esaminare le soluzioni verticalmente su fondo chiaro. Dopo 2 minuti la colorazione bruna della soluzione in esame non deve essere più intensa di quella della soluzione di riferimento. Il saggio non è valido se la soluzione di riferimento non presenta una colorazione bruna confrontata con il bianco o se la soluzione di controllo non è comparabile, in relazione all'intensità della colorazione, alla soluzione di riferimento.

Se il risultato del saggio è difficile da valutare, filtrare la soluzione su un filtro a membrana (diametro dei pori 3 µm; vedere fig. 2.4.8.-1, senza prefiltrato). Effettuare la filtrazione lentamente e regolarmente applicando una pressione moderata e costante sul pistone. Comparare le macchie ottenute sui filtri con le diverse soluzioni.

METODO G

AVVERTENZA. Quando vengono utilizzati recipienti per la mineralizzazione ad alta pressione devono essere seguite le precauzioni di sicurezza e le istruzioni d'uso del fabbricante. Il ciclo di mineralizzazione deve essere elaborato in funzione del forno a microonde utilizzato (per esempio, forni a microonde ad energia controllata, forni a microonde a temperatura controllata o forni ad alta pressione). Il ciclo deve essere conforme alle istruzioni del fabbricante. Il ciclo di mineralizzazione è appropriato se si ottiene una soluzione limpida.

Soluzione in esame. Porre la quantità prescritta della sostanza da esaminare (non più di 0,5 g) in un beaker pulito e appropriato. Aggiungere successivamente 2,7 ml di *acido solforico R*, 3,3 ml di *acido nitrico R* e 2,0 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R* usando un agitatore magnetico. Dopo ciascuna aggiunta di reattivo, lasciar reagire la sostanza prima di aggiungere il reattivo successivo. Trasferire la miscela in un recipiente per la mineralizzazione resistente all'alta pressione (fluoropolimero o quarzo), pulito ed asciutto.

Soluzione di riferimento. Procedere come descritto per la soluzione in esame, utilizzando il volume prescritto di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* al posto della sostanza da esaminare.

Soluzione di controllo. Procedere come descritto per la soluzione in esame, aggiungendo alla sostanza da esaminare il volume di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* prescritto per la preparazione della soluzione di riferimento.

Soluzione del bianco. Procedere come descritto per la soluzione in esame, omettendo la sostanza da esaminare.

Chiudere i recipienti e porli in un forno da laboratorio a microonde. Mineralizzare usando una sequenza di 2 programmi separati appropriati. Elaborare i programmi in più moduli al fine di controllare la reazione monitorando la pressione, la temperatura o l'energia in base al tipo di forno a microonde disponibile. Dopo il primo programma lasciar raffreddare i recipienti prima di aprirli. Aggiungere a ciascun recipiente 2,0 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R* e mineralizzare utilizzando il secondo programma. Dopo il secondo programma lasciar raffreddare i recipienti prima di aprirli. Se necessario, per ottenere una soluzione limpida, ripetere l'aggiunta di *idrogeno perossido soluzione concentrata R* e il secondo programma di mineralizzazione.

Raffreddare, diluire con cautela con *acqua R* e trasferire, lavando, in una beuta; assicurarsi che il volume

totale non superi i 25 ml. Usando una cartina indicatrice con breve intervallo di pH, portare le soluzioni a pH 3,0-4,0 con *ammoniaca concentrata R1* (può essere utilizzata *ammoniaca diluita R1* quando ci si avvicina all'intervallo di pH specificato). Per evitare che le soluzioni si riscaldino utilizzare un bagno a ghiaccio ed un agitatore magnetico. Diluire a 40 ml con *acqua R* e mescolare. Aggiungere 2 ml di *tampone soluzione a pH 3,5 R*. Mescolare ed aggiungere a 1,2 ml di *tioacetammide reattivo R*. Mescolare immediatamente. Diluire a 50 ml con *acqua R*, agitare e lasciare a riposo per 2 min.

Filtrare la soluzione su un filtro a membrana (diametro dei pori 3 µm; vedere fig. 2.4.8.-1, senza prefiltra). Effettuare la filtrazione lentamente e regolarmente applicando una pressione moderata e costante sul pistone. Comparare le macchie ottenute sui filtri con le diverse soluzioni.

Esaminare le macchie sui filtri. La colorazione bruna della macchia della soluzione in esame non è più intensa di quella della macchia della soluzione di riferimento.

Il saggio non è valido se la macchia della soluzione di riferimento non presenta una colorazione bruna confrontata con la macchia della soluzione del bianco o se la macchia della soluzione di controllo non è confrontabile con la macchia della soluzione di riferimento.

2.4.9. FERRO

Disciogliere in *acqua R*, la prescritta quantità della sostanza in esame e diluire a 10 ml o con lo stesso solvente oppure usare 10 ml della prescritta soluzione. Aggiungere 2 ml di una soluzione (200 g/l) di *acido citrico R* e 0,1 ml di *acido tioglicolico R*. Mescolare, alcalinizzare con *ammoniaca R* e diluire a 20 ml con *acqua R*. Preparare una soluzione di riferimento nello stesso modo utilizzando 10 ml di *soluzione standard di ferro (Fe 1 ppm) R*.

Dopo 5 min l'eventuale colorazione rosa della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.10. PIOMBO NEGLI ZUCCHERI

Determinare il piombo mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo II, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Disciogliere 20,0 g della sostanza in esame in una miscela di volumi uguali di *acido acetico diluito R* ed *acqua R* e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione

limpida (10 g/l) di *ammonio pirrolidinditiocarbammato R* e 10,0 ml di *metilisobutilchetone R* e agitare per 30 s al riparo dalla luce viva. Lasciare separare le fasi e utilizzare quella metilisobutilchetonica.

Soluzioni di riferimento. Preparare tre soluzioni di riferimento nello stesso modo della soluzione in esame ma aggiungendo, rispettivamente, 0,5 ml, 1,0 ml e 1,5 ml di *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* oltre a 20,0 g della sostanza in esame.

Azzerare lo strumento con *metilisobutilchetone R* trattato come descritto per la soluzione in esame, senza l'aggiunta della sostanza in esame. Misurare l'assorbanza a 283,3 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al piombo ed una fiamma aria-acetilene.

La sostanza in esame contiene non più di 0,5 ppm di piombo, se non diversamente prescritto.

2.4.11. FOSFATI

Aggiungere 4 ml di *solfomolibdico reattivo R3* a 100 ml di soluzione preparata e, se necessario, neutralizzata come prescritto. Agitare ed aggiungere 0,1 ml di *stagno(-oso) cloruro soluzione R1*. Preparare una soluzione di riferimento, nello stesso modo, utilizzando 2 ml di *soluzione standard di fosfato (PO₄ 5 ppm) R* e 98 ml di *acqua R*. Confrontare, dopo 10 min, i colori usando 20 ml di ciascuna soluzione.

L'eventuale colorazione della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.12. POTASSIO

Aggiungere 2 ml di una soluzione (10 g/l) di *sodio tetrafenilborato R*, preparata di recente, a 10 ml della prescritta soluzione. Preparare una soluzione di riferimento, nello stesso modo, utilizzando una miscela di 5 ml di *soluzione standard di potassio (K 20 ppm) R* e 5 ml di *acqua R*.

Dopo 5 min, l'eventuale opalescenza della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.13. SOLFATI

Tutte le soluzioni usate in questo saggio devono essere preparate con acqua distillata R.

Aggiungere 3 ml di una soluzione (250 g/l) di *bario cloruro R* a 4,5 ml di *soluzione standard di solfato (SO₄ 10 ppm) R1*. Agitare e lasciare a riposo per 1 min. A 2,5 ml di questa soluzione aggiungere 15 ml della

soluzione in esame e 0,5 ml di *acido acetico R*. Preparare una soluzione di riferimento nello stesso modo, usando 15 ml della *soluzione standard di solfato (SO₄ 10 ppm) R* al posto della soluzione in esame.

Dopo 5 min l'eventuale opalescenza della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento.

2.4.14. CENERI SOLFORICHE

Calcinare a 600±50 °C, per 30 min, un idoneo crogiolo (silice, platino, porcellana o quarzo), lasciar raffreddare in un essiccatore su gel di silice e pesare. Introdurre nel crogiolo la prescritta quantità della sostanza in esame e pesare. Umettere la sostanza con una piccola quantità di *acido solforico R* (generalmente 1 ml) e riscaldare dolcemente alla più bassa temperatura possibile fino a che il campione è completamente carbonizzato. Dopo raffreddamento, bagnare il residuo con una piccola quantità di *acido solforico R*, riscaldare dolcemente fino a cessazione dello sviluppo di fumi bianchi, quindi calcinare a 600 ± 50 °C fino a che il residuo è completamente incenerito. Assicurarsi che non si producano fiamme durante l'intero procedimento. Lasciar raffreddare il crogiolo in un essiccatore, su gel di silice, pesarlo nuovamente e calcolare la massa residua.

Se la massa del residuo così ottenuta supera il limite prescritto, ripetere l'umettamento con *acido solforico R* e la calcinazione, come indicato precedentemente, per periodi di 30 min fino a due pesate consecutive che non differiscono per più di 0,5 mg o fino a che la percentuale del residuo soddisfi al limite prescritto.

La quantità di sostanza usata per il saggio (generalmente 1-2 g) viene scelta in modo che al limite prescritto la massa del residuo (generalmente circa 1 mg) possa essere misurata con sufficiente accuratezza.

2.4.15. NICHEL NEI POLIOLI

Determinare il nichel mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo II*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Disciogliere 20,0 g della sostanza in esame in una miscela di volumi uguali di *acido acetico diluito R* ed *acqua R* e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione satura (circa 10 g/l) di *ammonio pirrolidinditiocarbammato R* e 10,0 ml di *isobutilmetilchetone R* ed agitare per 30 s al riparo dalla luce viva. Lasciar separare le fasi ed usare la fase isobutilmetilchetonica.

Soluzioni di riferimento. Preparare tre soluzioni di riferimento nello stesso modo della soluzione in esame,

ma aggiungendo, rispettivamente, 0,5 ml, 1,0 ml e 1,5 ml di *soluzione standard di nichel (Ni 10 ppm) R* oltre a 20,0 g di sostanza in esame.

Azzerare lo strumento utilizzando *isobutilmetilchetone R* trattato come descritto nella preparazione della soluzione in esame ma senza l'aggiunta della sostanza in esame. Misurare l'assorbanza a 232,0 nm utilizzando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al nichel ed una fiamma aria-acetilene.

La sostanza in esame non contiene più di 1,0 ppm di nichel, se non diversamente prescritto.

2.4.16. CENERI TOTALI

Riscaldare al rosso per 30 min un crogiolo di silice o di platino, lasciar raffreddare in un essiccatore e pesare. Se non diversamente prescritto, distribuire uniformemente nel crogiolo 1,00 g della sostanza o della droga vegetale polverizzata in esame. Essiccare a 100-105 °C per 1 h e calcinare fino a massa costante in un forno a muffola a 600 ± 25 °C lasciando raffreddare il crogiolo in essiccatore dopo ogni trattamento. Evitare la formazione di fiamma durante tutta la procedura. Se dopo prolungata calcinazione le ceneri contengono ancora particelle nere, riprendere con acqua calda, filtrare su filtro di carta esente da ceneri e calcinare il residuo e la carta da filtro. Unire il filtrato con le ceneri, evaporare con cautela e calcinare fino a massa costante.

2.4.17. ALLUMINIO

Porre la prescritta soluzione in un imbuto separatore ed agitare con due porzioni, ciascuna di 20 ml, e quindi con ulteriori 10 ml di una soluzione (5 g/l) di *idrossichinolina R* in *cloroformio R*. Diluire le soluzioni cloroformiche riunite a 50,0 ml con *cloroformio R* (soluzione in esame).

Preparare una soluzione di riferimento nello stesso modo utilizzando la prescritta soluzione standard.

Preparare un bianco nello stesso modo utilizzando la prescritta soluzione.

Misurare l'intensità della fluorescenza (2.2.21) della soluzione in esame (I_1), della soluzione di riferimento (I_2) e del bianco (I_3) con un'eccitazione a 392 nm e un filtro secondario con una banda di trasmissione centrata a 518 nm o un monocromatore regolato alla stessa lunghezza d'onda.

La fluorescenza ($I_1 - I_3$) della soluzione in esame non è superiore a quella della soluzione di riferimento ($I_2 - I_3$).

2.4.18. FORMALDEIDE LIBERA

Usare il metodo A se non diversamente prescritto. Il metodo B è adatto per i vaccini ai quali è stato aggiunto sodio metabisolfito per neutralizzare l'eccesso di formaldeide.

METODO A

Per i vaccini per uso umano, preparare una diluizione 1 a 10 del vaccino da esaminare. Per le anatossine batteriche per uso veterinario, preparare una diluizione 1 a 25 del vaccino da esaminare.

Aggiungere 4 ml di *acqua R* e 5 ml di *acetilacetone reattivo RI* ad 1 ml della diluizione. Immergere la provetta in un b.m. a 40 °C per 40 min. Esaminare le provette lungo l'asse verticale. La soluzione in esame non è più intensamente colorata di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo usando, invece della diluizione del vaccino in esame, 1 ml di una diluizione di *formaldeide soluzione R* contenente 20 µg di formaldeide (CH₂O) per millilitro.

METODO B

Soluzione in esame. Preparare una diluizione 1:200 del vaccino in esame con *acqua R*. Se il vaccino è un'emulsione, preparare una equivalente diluizione usando la fase acquosa separata con una idonea procedura (vedere di seguito). Se per la separazione della fase acquosa è usato uno dei metodi descritti di seguito, preparare una diluizione 1:20 di quest'ultima.

Soluzioni di riferimento. Preparare soluzioni contenenti 0,25 g/l, 0,50 g/l, 1,00 g/l e 2,00 g/l di CH₂O mediante diluizione della *formaldeide soluzione R* con *acqua R*. Preparare una diluizione 1:200 di ciascuna soluzione con *acqua R*.

A 0,5 ml della soluzione in esame e di ciascuna delle soluzioni di riferimento poste in provette da saggio aggiungere 5,0 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *metilbenzotiazolone idrazone cloridrato R* preparata di recente. Chiudere le provette, agitare e lasciare a riposo per 60 min. Aggiungere 1 ml di *ferro(-ico) cloruro-acido solfammico reattivo R* e lasciare a riposo per 15 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione a 628 nm. Calcolare il contenuto della formaldeide nel vaccino in esame dalla curva di calibrazione ottenuta usando le soluzioni di riferimento. Il saggio non è valido se il coefficiente di correlazione (r) della curva di calibrazione è inferiore a 0,97.

Emulsioni. Se il vaccino in esame è un'emulsione, la fase acquosa è separata mediante un'ideale procedura e usata per la preparazione della soluzione in esame. Le seguenti procedure sono risultate idonee.

- Aggiungere 1,0 ml di vaccino in esame a 1,0 ml di *isopropile miristato R* e mescolare. Aggiungere 1,3 ml di *acido cloridrico 1 M*, 2,0 ml di *cloroformio R* e 2,7 ml di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Mescolare accuratamente e centrifugare a 15000 g per 60 min. Trasferire la fase acquosa in un pallone tarato da 10 ml e portare a volume con *acqua R*. Se questa procedura non è in grado di separare la fase acquosa aggiungere 100 g/l di *polisorbato 20 R* alla soluzione di sodio cloruro e ripetere la procedura ma centrifugando a 22500 g.
- Aggiungere 1,0 ml del vaccino in esame a 1,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *sodio cloruro R* e mescolare. Centrifugare a 1000 g per 15 min. Trasferire la fase acquosa in un pallone tarato da 10 ml e portare a volume con *acqua R*.
- Aggiungere 1,0 ml del vaccino in esame a 2,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *sodio cloruro R* e 3,0 ml di *cloroformio R* e mescolare. Centrifugare a 1000 g per 5 min. Trasferire la fase acquosa in un pallone tarato da 10 ml e portare a volume con *acqua R*.

2.4.19. IMPUREZZE ALCALINE NEGLI OLI GRASSI

In una provetta mescolare 10 ml di *acetone R*, distillato di recente e 0,3 ml di *acqua R* ed aggiungere 0,05 ml di una soluzione (0,4 g/l) di *blu bromofenolo R* in *alcol R*. Se necessario, neutralizzare con *acido cloridrico 0,01 M* o con *sodio idrossido 0,01 M*. Aggiungere 10 ml dell'olio in esame, agitare e lasciare a riposo. Non più di 0,1 ml di *acido cloridrico 0,01 M* sono richieste per il viraggio al giallo dello strato superiore.

2.4.21. OLI ESTRANEI NEGLI OLI GRASSI MEDIANTE CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *kieselguhr G R* come sostanza di rivestimento. Impregnare una lastra ponendola in una vasca cromatografica contenente la quantità necessaria di una miscela di 10 volumi di *paraffina liquida R* e 90 volumi di *etere di petrolio R* in modo che si immerga per almeno 5 mm al di sotto della superficie del liquido. Quando la miscela di impregnazione ha percorso una distanza di almeno 12 cm dal lato inferiore della lastra,

rimuovere la lastra e lasciar evaporare il solvente per 5 min. Effettuare la cromatografia nella stessa direzione della impregnazione.

Preparazione della miscela di acidi grassi. Riscaldare, per 45 min con un refrigerante a ricadere, 2 g di olio con 30 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M*. Aggiungere 50 ml di *acqua R*, lasciar raffreddare, trasferire in un imbuto separatore ed estrarre con tre porzioni, ciascuna di 50 ml, di *etere R*. Scartare gli estratti eteri, acidificare la fase acquosa con *acido cloridrico R* ed estrarre con tre porzioni, ciascuna di 50 ml, di *etere R*. Riunire gli estratti eteri e lavare con tre porzioni, ciascuna di 10 ml, di *acqua R*; eliminare le acque di lavaggio, seccare l'etere su *sodio solfato anidro R* e filtrare. Evaporare l'etere a b.m. Utilizzare il residuo per preparare la soluzione in esame. Gli acidi grassi possono essere ottenuti da una soluzione di sapone preparata durante la determinazione delle sostanze insaponificabili.

Soluzione in esame. Disciogliere in 4 ml di *cloroformio R* 40 mg della miscela di acidi grassi ottenuta dalla sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere in 4 ml *cloroformio R* 40 mg della miscela di acidi grassi ottenuta da una miscela di 19 volumi di *olio di mais R* e 1 volume di *olio di colza R*.

Deporre separatamente sulla lastra 3 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 8 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R* e 90 volumi di *acido acetico glaciale R*. Seccare la lastra a 110 °C per 10 min. Lasciar raffreddare, se non diversamente prescritto, porre la lastra in una vasca cromatografica, con un idoneo coperchio ermetico, che è stata precedentemente saturata con vapori di iodio ponendo *iodio R* in un cristallizzatore sul fondo della vasca. Dopo un po' di tempo diventano visibili delle macchie marroni o marroni giallastre. Rimuovere la lastra e lasciar riposare per alcuni minuti. Quando il colore marrone del fondo scompare, spruzzare con *amido soluzione R*. Appaiono delle macchie blu che possono diventare marroni all'essiccamento e di nuovo diventare blu dopo spruzzamento con *acqua R*. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta sempre una macchia con un R_f di circa 0,5 (acido oleico) e una macchia con un R_f di circa 0,65 (acido linoleico) corrispondenti alle macchie nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Con alcuni oli può essere presente una macchia con un R_f di circa 0,75 (acido linolenico). Per confronto con la macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento, verificare l'assenza di una macchia con un R_f di circa 0,25 (acido erucico) nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame.

2.4.22. COMPOSIZIONE IN ACIDI GRASSI MEDIANTE GAS CROMATOLOGRAFIA

Il saggio per gli oli estranei si effettua sugli esteri metilici degli acidi grassi contenuti nell'olio in esame, mediante gas cromatografia (2.2.28).

METODO A

Questo metodo non è applicabile agli oli che contengono gliceridi di acidi grassi con un gruppo eposs-, idroepossi-, idroperossi, ciclopropilico o ciclopropenilico, o a quelli che contengono in grande quantità acidi grassi il cui numero di atomi di carbonio nella catena è inferiore a otto o ad oli il cui indice di acidità è superiore a 2,0.

Soluzione in esame. Quando prescritto nella monografia, essiccare l'olio in esame prima della metilazione. Pesare 1,0 g di olio in un pallone a fondo tondo con collo a smeriglio, della capacità di 25 ml, munito di refrigerante a ricadere e di un dispositivo che permette di far passare una corrente di gas nel pallone. Aggiungere 10 ml di *metanolo anidro R* e 0,2 ml di una soluzione (60 g/l) di *potassio idrossido R* in *metanolo R*. Fissare il refrigerante a ricadere, far passare attraverso la miscela una corrente di *azoto R* ad una velocità di circa 50 ml per min. Agitare e scaldare all'ebollizione. Quando la soluzione è limpida (generalmente dopo circa 10 min), continuare a scaldare ancora per 5 min. Raffreddare il pallone sotto acqua corrente e trasferire il contenuto in un imbuto separatore. Lavare il pallone con 5 ml di *eptano R*, versare nell'imbuto separatore ed agitare. Aggiungere 10 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio cloruro R* ed agitare vigorosamente. Lasciar separare le fasi e trasferire lo strato organico in una fiala contenente *sodio solfato anidro R*. Lasciare a riposo e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Preparare 0,50 g della miscela delle sostanze per la taratura con la composizione descritta in una delle tabelle 2.4.22 come prescritto nella monografia specifica (usare la composizione descritta nella Tabella 2.4.22.-1 quando la monografia non menziona una soluzione specifica). Disciogliere in *eptano R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1,0 ml della soluzione di riferimento (a) a 10,0 ml con *eptano R*.

Soluzione di riferimento (c). Preparare 0,50 g di una miscela di esteri metilici di acidi grassi che corrisponde in composizione alla miscela di acidi grassi indicati nella monografia della sostanza in esame. Disciogliere in *eptano R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Possono essere utilizzate anche miscele di esteri metilici degli acidi grassi disponibili in commercio.

Colonna:

- *materiale:* silice fusa, vetro o quarzo,
- *dimensioni:* $l = 10-30$ m, $\varnothing = 0,2-0,8$ mm,
- *fase stazionaria:* *macrogol 20000 R* (spessore del film 0,1-0,5 μm) o altra fase stazionaria idonea.

Gas di trasporto: elio per cromatografia R o idrogeno per cromatografia R.

Velocità di flusso: 1,3 ml/min (per una colonna $\varnothing = 0,32$ mm).

Rapporto di divisione: 1:100 o inferiore, secondo il diametro interno della colonna usata (1:50 quando $\varnothing = 0,32$ mm).

Temperatura:

- *colonna:* in condizioni isoterme, 160–200 °C, secondo la lunghezza e il tipo di colonna usata (200 °C per una colonna lunga 30 m e rivestita di uno strato di *macrogolo 20000 R*); se è necessaria una programmazione lineare della temperatura, aumentare, per esempio, la temperatura della colonna ad una velocità di 3 °C/min da 170 °C a 230 °C;
- *camera di iniezione:* 250 °C,
- *rivelatore:* 250 °C.

Rivelazione: ionizzazione di fiamma.

Iniezione: 1 μl .

Sensibilità: l'altezza del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) è almeno il 50-70 per cento della scala totale del registratore.

Idoneità del sistema quando si usa la miscela delle sostanze di calibrazione riportata nella tabella 2.4.22.-1 o 2.4.22.-3:

- *risoluzione:* almeno 1,8 tra i picchi dovuti al metile oleato e al metile stearato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a),

Composizione in acidi grassi mediante gas cromatografia

- *rapporto segnale/rumore*: almeno 5 per il picco dovuto al metile miristato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b),
- *numero di piatti teorici*: almeno 30000 calcolato per il picco dovuto al metile stearato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Idoneità del sistema quando si usa la miscela delle sostanze di calibrazione riportata nella tabella 2.4.22.-2:

- *risoluzione*: almeno 4,0 tra i picchi dovuti al metile caprilato e al metile caprato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a),
- *rapporto segnale/rumore*: almeno 5 per il picco dovuto al metile caproato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b),
- *numero di piatti teorici*: almeno 15000 calcolato per il picco dovuto al metile caprato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Valutazione dei cromatogrammi

Evitare condizioni operative che diano sovrapposizione dei picchi (presenza di componenti con tempi di ritenzione vicini, come per esempio, gli acidi linolenico ed arachidico).

Analisi quantitativa. Identificare i picchi nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (c) (condizioni operative isoterme o programmazione lineare della temperatura).

Quando si usano condizioni operative isoterme, i picchi possono anche essere identificati costruendo curve di taratura usando il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) e le informazioni date nelle tabelle 2.4.22.-1, 2.4.22.-2 o 2.4.22.-3.

Tabella 2.4.22.-1. *Miscela di sostanze per la taratura (per la gas cromatografia su colonna capillare con “split inlet sistem”, si raccomanda di aggiungere nella miscela per la taratura il componente della miscela in esame che possiede la catena più lunga, quando l’analisi qualitativa viene fatta usando le curve di calibrazione)*

Miscela delle seguenti sostanze	Composizione (per cento m/m)
Metile laurato R	5
Metile miristato R	5
Metile palmitato R	10
Metile stearato R	20
Metile arachidato R	40
Metile oleato R	20

Tabella 2.4.22.-2. *Miscela di sostanze per la taratura (per la gas cromatografia su colonna capillare con “split inlet sistem”, si raccomanda di aggiungere nella miscela per la taratura il componente della miscela in esame che possiede la catena più lunga, quando l’analisi qualitativa viene fatta usando le curve di calibrazione)*

Miscela delle seguenti sostanze	Composizione (per cento m/m)
Metile caproato R	10
Metile caprilato R	10
Metile caprato R	20
Metile laurato R	20
Metile miristato R	40

Tabella 2.4.22.-3. *Miscela di sostanze per la taratura (per la gas cromatografia su colonna capillare con “split inlet sistem”, si raccomanda di aggiungere nella miscela per la taratura il componente della miscela in esame che possiede la catena più lunga, quando l’analisi qualitativa viene fatta usando le curve di calibrazione)*

Miscela delle seguenti sostanze	Composizione (per cento m/m)
Metile miristato R	5
Metile palmitato R	10
Metile stearato R	15
Metile arachidato R	20
Metile oleato R	20
Metile eicosenoato R	10
Metile beenato R	10
Metile lignocerato R	10

Misurare il tempo di ritenzione ridotto (t'_R) di ogni picco nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). t'_R è il tempo di ritenzione misurato rispetto al picco del solvente e non rispetto al tempo di iniezione. Tracciare la linea retta

$$\log(t'_R) = f(\text{lunghezza di catena equivalente})$$

I logaritmi di t'_R degli acidi insaturi sono situati in questa linea in più punti corrispondenti a valori non interi di atomi di carbonio noti come “lunghezze di catena equivalenti”; la lunghezza di catena equivalente è la lunghezza della catena satura teorica che dovrebbe avere lo stesso t'_R dell’acido grasso da identificare. Per esempio l’acido linoleico ha lo stesso t'_R dell’acido grasso saturo teorico avente 18,8 atomi di carbonio.

Identificare i picchi nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame mediante la linea retta ed i tempi di ritenzione ridotti.

Le lunghezze di catene equivalenti sono riportate nella Tabella 2.4.22.-4.

Tabella 2.4.22.-4. Lunghezze di catene equivalenti (questo valore, che deve essere calcolato usando curve di calibrazione, è dato come esempio per una colonna di macrogol 20000 R)

Acido Grasso	Lunghezze di catena equivalenti
Acido caproico	6,0
Acido caprilico	8,0
Acido caprico	10,0
Acido laurico	12,0
Acido miristico	14,0
Acido palmitico	16,0
Acido palmitoleico	16,3
Acido margarico	17,0
Acido stearico	18,0
Acido oleico	18,3
Acido linoleico	18,8
Acido gamma linoleico	19,0
Acido alfa linoleico	19,2
Acido arachidico	20,0
Acido eicosenoico	20,2
Acido arachidonico	21,2
Acido benico	22,0
Acido erucico	22,2
Acido 12-ossosterico	22,7
Acido ricinoleico	23,9
Acido 12-idrossistearico	23,9
Acido lignoceric	24,0
Acido nervonico	24,2

Analisi quantitativa. Utilizzare il metodo di normalizzazione nel quale la somma delle aree dei picchi del cromatogramma, ad eccezione di quella del solvente, è posta uguale al 100 per cento. Calcolare la quantità di ciascun componente determinando l'area del picco corrispondente come percentuale della somma delle aree di tutti i picchi. Trascurare i picchi la cui area è inferiore allo 0,05 per cento dell'area totale.

In alcuni casi, per esempio in presenza di acidi grassi con un numero di atomi di carbonio uguale o inferiore a 12, i fattori di correzione possono essere prescritti nella singola monografia per convertire l'area del picco in percentuale (*m/m*).

METODO B

Questo metodo non è applicabile agli oli che contengono gliceridi di acidi grassi con un gruppo eposs-, idroeposs-, idroperossi-, ciclopropilico o ciclopropenilico o ad oli il cui indice di acidità è superiore a 2,0.

Soluzione in esame. Introdurre 0,100 g della sostanza in esame in un tubo da centrifuga con un tappo a vite da 10 ml. Disciogliere con 1 ml di *eptano R* e 1 ml di *dimetilcarbonato R* e mescolare vigorosamente scaldando leggermente (50-60 °C). Aggiungere, alla soluzione ancora calda, 1 ml di una soluzione (12 g/l) di *sodio R* in *metanolo anidro R*, preparato con le precauzioni necessarie, e mescolare vigorosamente per circa 5 min. Aggiungere 3 ml di *acqua distillata R* e mescolare vigorosamente per circa 30 s. Centrifugare per 15 min a 1500 g. Iniettare 1 µl della fase organica.

Soluzioni di riferimento e valutazione dei cromatogrammi. Senza prescrizioni specifiche nella singola monografia, procedere come descritto nel Metodo A.

Colonna:

- *materiale:* silice fusa,
- *dimensioni:* *l* = 30 m, Ø = 0,25 mm,
- *fase stazionaria:* *macrogol 20000 R* (spessore del film 0,25 µm).

Gas di trasporto: *elio per cromatografia R*.

Velocità di flusso: 0,9 ml/min.

Rapporto di divisione: 1:100.

Temperatura:

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
Colonna	0 - 15	100
	15 - 36	100→ 225
	36 - 61	225
Camera di iniezione		250
Rivelatore		250

Rivelazione: ionizzazione di fiamma.

Iniezione: 1 µl.

METODO C

Questo metodo non è applicabile agli oli che contengono gliceridi di acidi grassi con gruppi eposs-, idroeposs-, idroperossi-, aldeidi, chetoni, ciclopropilici e ciclopropenilici, e a composti acetilenici e polinsaturi coniugati perché provoca la distruzione parziale o completa di questi gruppi.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,10 g della sostanza in esame in 2 ml di una soluzione (20 g/l) di *sodio idrossi-*

do *R* in *metanolo R* in una beuta da 25 ml e bollire sotto un refrigerante a ricadere per 30 min. Aggiungere 2,0 ml di *metanolo - boro trifluoruro soluzione R* attraverso il condensatore e bollire per 30 min. Aggiungere 4 ml di *eptano R* attraverso il condensatore e bollire per 5 min. Raffreddare e aggiungere 10,0 ml di *sodio cloruro soluzione satura R*, agitare per circa 15 s e aggiungere una quantità di *sodio cloruro soluzione satura R* tale che la fase superiore sia portata nel collo del pallone. Prelevare 2 ml della fase superiore, lavare con tre porzioni, ciascuna di 2 ml, di *acqua R* ed essiccare su *sodio solfato anidro R*.

Soluzioni di riferimento, procedimento cromatografico e valutazione dei cromatogrammi. Senza una prescrizione specifica nella singola monografia, procedere come descritto nel Metodo A.

2.4.23. STEROLI NEGLI OLI GRASSI

SEPARAZIONE DELLA FRAZIONE STEROLICA

Preparare le sostanze insaponificabili e quindi isolare la frazione sterolica degli oli grassi mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando una *lastra di gel di silice per cromatografia su strato sottile R* dello spessore di 0,2-0,5 mm.

Soluzione in esame (a). In un pallone da 150 ml munito di un refrigerante a ricadere, porre un volume di una soluzione (2 g/l) di *betulina R* in *diclorometano R* contenente una quantità di *betulina* corrispondente a circa il 10 per cento del contenuto di steroli del campione utilizzato per la determinazione (per esempio nel caso dell'olio di oliva aggiungere 500 µl di soluzione di *betulina*, nel caso di altri oli vegetali aggiungere 1500 µl). Se la monografia richiede il contenuto percentuale dei singoli steroli della frazione sterolica, l'aggiunta di *betulina* può essere omessa. Evaporare a secco in corrente di *azoto R*. Aggiungere 5,00 g (*m*) della sostanza in esame. Aggiungere 50 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 2 M R* e scaldare a b.m. per 1 h, agitando frequentemente. Raffreddare a temperatura inferiore a 25 °C e trasferire il contenuto del pallone in un imbuto separatore con 100 ml di *acqua R*. Agitare con precauzione il liquido usando tre porzioni, da 100 ml ciascuna, di *etere esente da perossidi R*. Riunire le fasi eteriche in un altro imbuto separatore contenente 40 ml di *acqua R*, agitare leggermente per alcuni minuti, lasciare separare ed eliminare la fase acquosa. Lavare più volte la fase eterica con diverse porzioni di *acqua R*, da 40 ml ciascuna, finché la fase acquosa non sia più alcalina alla fenoltaleina. Trasferire la fase eterica in

un pallone tarato lavando l'imbuto separatore con *etere esente da perossidi R*. Distillare l'etere usando precauzioni appropriate ed aggiungere al residuo 6 ml di *acetone R*. Eliminare con cautela il solvente in corrente di *azoto R*. Essiccare a 100-105 °C fino a massa costante. Lasciar raffreddare in essiccatore e pesare. Trasferire il residuo in un piccolo tubo da saggio con *diclorometano R*. Evaporare in corrente di *azoto R* fino ad un volume di circa 1 ml. In funzione del contenuto di materiale insaponificabile dell'olio, adattare la concentrazione finale della soluzione a 25-50 mg/ml.

Soluzione in esame (b). Trattare 5,00 g di *olio di colza R* come descritto per la sostanza in esame a partire dalle parole "Aggiungere 50 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 2 MR*".

Soluzione in esame (c). Trattare 5,00 g di *olio di girasole R* come descritto per la sostanza in esame a partire dalle parole "Aggiungere 50 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 2 MR*".

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di *colestero R* e 10 mg di *betulina R* in 1 ml di *diclorometano R*.

Utilizzare una lastra differente per ciascuna soluzione in esame. Deposare 10 µl della soluzione di riferimento come banda di 10 mm, a 20 mm dalla base e a 10 mm del bordo sinistro e 0,5 ml delle soluzioni in esame (a) (b) o (c) come bande di 150 mm a 20 mm dalla base. Eluire per un percorso di 17 cm usando una miscela di 35 volumi di *etere R* e 65 volumi di *esano R*. Seccare le lastre in corrente di *azoto R*. Spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *diclorofluoresceina R* in *etanolo R* ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta bande corrispondenti al colesterolo e alla *betulina*. I cromatogrammi ottenuti con le soluzioni in esame presentano bande con valori simili per R_f corrispondenti agli steroli. Da ciascuno dei cromatogrammi prelevare un'area della sostanza di rivestimento corrispondente all'area occupata dalle bande degli steroli e anche un'area situata a 2-3 mm al di sopra e al di sotto delle zone visibili corrispondenti alla soluzione di riferimento. Porre questi prelievi separatamente in tre palloni da 50 ml. Aggiungere a ciascun pallone 15 ml di *diclorometano R* e scaldare sotto agitazione per 15 min.

Filtrare ciascuna soluzione su un filtro di vetro a setto poroso (40) (2.1.2) o su filtro di carta appropriato. Lavare ciascun filtro con tre porzioni, di 15 ml ciascuna, di *diclorometano R*. Introdurre in tre diversi palloni tarati il filtrato e i liquidi di lavaggio ottenuti rispettivamente da ciascun filtro, evaporare a secco in corrente di *azoto R* fino ad ottenere un volume di circa 5-10 ml. Travasare in un tubo da emolisi ed evaporare a secco in corrente di *azoto R*.

DETERMINAZIONE DEGLI STEROLI

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28). Effettuare le operazioni al riparo dell'umidità e preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Soluzione in esame. Agli steroli separati dalla sostanza in esame mediante cromatografia su strato sottile aggiungere una miscela, preparata di recente, di 0,04 ml di *clorotrimetilsilano R*, 0,01 ml di *esametildisilazano R* e 0,5 ml di *piridina anidra R*. Lasciare a riposo per almeno 5 min ed utilizzare la fase liquida.

Soluzione di riferimento (a). A 9 parti degli steroli separati dall'olio di *colza R* mediante cromatografia su strato sottile, aggiungere 1 parte di *colesterolo R*. Aggiungere alla miscela una miscela preparata di recente, di 0,04 ml di *clorotrimetilsilano R*, 0,1 ml di *esametildisilazano R* e 0,5 ml di *piridina anidra R*. Lasciare a riposo per almeno 5 min ed utilizzare la fase liquida.

Soluzione di riferimento (b). Agli steroli separati dall'olio di *girasole R* mediante cromatografia su strato sottile aggiungere una miscela preparata di recente, di 0,04 ml di *clorotrimetilsilano R*, 0,1 ml di *esametildisilazano R* e 0,5 ml di *piridina anidra R*. Lasciare a riposo per almeno 5 min ed utilizzare la fase liquida.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna in silice fusa, lunga 20-30 m e con diametro interno di 0,25-0,32 mm, rivestita internamente con *poli[metil(95)fenil(5)]silossano R* o con *poli(cianopropil)(7)(fenil)(7)(metil)(86)silossano R* (spessore del film 0,25 m),
- *idrogeno per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 30-50 cm per secondo o *elio per cromatografia R* ad una velocità di flusso di 20-35 cm per secondo:
- un iniettore con rapporto di divisione (1/50 o 1/100),
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 260 °C, quella della camera di iniezione a 280 °C e quella del rivelatore a 290 °C.

Iniettare 1µl di ciascuna soluzione.

Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) presenta quattro picchi principali corrispondenti al colesterolo, al brassicasterolo, al campesterolo e al β-sitosterolo e il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro picchi principali corrispondenti al campesterolo, allo stigmasterolo, al β-sitosterolo e al Δ7-stigmasterolo. I tempi di ritenzione degli steroli rispetto al β-sitosterolo sono riportati nella Tabella 2.4.23.-1.

Tabella 2.4.23.-1. - *Tempi di ritenzione degli steroli relativi al β-sitosterolo ottenuti con due differenti colonne*

	Poli(cianopropil)(7)fenil(7)(metil)(86)silossano	Poli[metil(95)fenil(5)]silossano
Colesterolo	0,64	0,63
Brassicasterolo	0,70	0,71
24-Metilcolesterolo	0,79	0,80
Campesterolo	0,82	0,81
Campestanolo	0,83	0,82
Stigmasterolo	0,87	0,87
Δ7-Campesterolo	0,93	0,92
Δ5,23-Stigmastadienolo	0,95	0,95
Clerosterolo	0,96	0,96
β-Sitosterolo	1	1
Sitostanolo	1,01	1,02
Δ5-Avenasterolo	1,03	1,03
Δ5,24-Stigmastadienolo	1,09	1,08
Δ7-Stigmastenolo ⁽¹⁾	1,13	1,12
Δ7-Avenasterolo	1,18	1,16
Betulina	1,4	1,4

⁽¹⁾ Questo sterolo è chiamato anche Δ7-Stigmasterolo in letteratura

Il picco corrispondente allo standard interno (betulina) deve essere nettamente separato dai picchi degli steroli da determinare.

Per il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame identificare i picchi e calcolare il contenuto percentuale di ciascun sterolo nella frazione sterolica della sostanza in esame mediante l'espressione seguente:

$$\frac{A}{S} \times 100$$

A = area del picco corrispondente al componente da determinare,

S = somma delle aree dei picchi corrispondenti ai componenti indicati nella Tabella 2.4.23.-1.

Se richiesto nella monografia, calcolare il contenuto di ciascuno sterolo, in milligrammi per 100 g della sostanza in esame mediante l'espressione seguente:

$$\frac{A \times m' \times 100}{A' \times m}$$

A = area del picco corrispondente al componente da determinare,

A' = area del picco corrispondente alla betulina,

m = massa del campione della sostanza in esame in grammi,

m' = massa della *betulina R* aggiunta in milligrammi.

2.4.24. IDENTIFICAZIONE E CONTROLLO DEI SOLVENTI RESIDUI

Le procedure di saggio prescritte in questo metodo generale possono essere usate:

- i. per l'identificazione della maggior parte dei solventi residui della Classe 1 e della Classe 2 in una sostanza attiva, in un eccipiente o in un prodotto medicinale se i solventi residui non sono noti;
- ii. come saggio limite per i solventi della Classe 1 e della Classe 2 se presenti nella sostanza attiva, nell'eccipiente o nel prodotto medicinale;
- iii. per la quantificazione dei solventi della Classe 2 se i limiti sono superiori a 1000 ppm (0,1 per cento) o per la quantificazione dei solventi della Classe 3 se richiesto.

I solventi residui della Classe 1, della Classe 2 e della Classe 3 sono elencati nel capitolo generale 5.4. *Solventi residui*.

Sono descritti tre diluenti per la preparazione campione e le condizioni da applicare per l'iniezione a spazio di testa del campione gassoso nel sistema cromatografico. Sono prescritti due sistemi cromatografici ma si preferisce il Sistema A mentre il Sistema B è usato normalmente per la conferma dell'identità. La scelta della procedura per la preparazione del campione dipende dalla solubilità della sostanza da esaminare e in alcuni casi dai solventi residui da controllare.

I solventi residui seguenti non sono rivelati rapidamente nelle condizioni di iniezione a spazio di testa descritte: formammide, 2-etossietanolo, 2-metossietanolo, etilenglicole, N-metilpirrolidone e solfolano. Per il controllo di questi solventi residui dovrebbero essere impiegate altre procedure appropriate.

Quando la procedura è applicata per dosare quantitativamente i solventi residui in una sostanza, essa deve essere convalidata.

PROCEDIMENTO

Esaminare mediante gas cromatografia a spazio di testa statico (2.2.28).

Preparazione campione 1. E' destinata al controllo dei solventi residui delle sostanze solubili in acqua.

Soluzione campione (1). Disciogliere 0,200 g della sostanza in esame in *acqua R* e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente.

Preparazione campione 2. E' destinata al controllo dei solventi residui delle sostanze insolubili in acqua.

Soluzione campione (2). Disciogliere 0,200 g della sostanza in esame in *N,N-dimetilformammide R* (DMF) e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente.

Preparazione campione 3. E' destinata al controllo di *N,N*-dimetilacetammide *R* e/o *N,N*-dimetilformammide *R*, se si conosce o si sospetta che una o entrambe queste sostanze siano presenti nella sostanza da esaminare.

Soluzione campione (3). Disciogliere 0,200 g della sostanza in esame in *1,3-dimetil-2-imidazolidinone R* (DMI) e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente.

In alcuni casi nessuna delle procedure di preparazione sopra riportata è appropriata. In questo caso si deve dimostrare che il diluente da usare per la preparazione della soluzione campione e le condizioni a spazio di testa statico sono adeguate.

Soluzione del solvente (a). A 1 ml di *solvente residuo di Classe 1 soluzione SCR* aggiungere 9 ml *dimetilsolfossido R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 100 ml con *acqua R*. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 10,0 ml con *acqua R*.

Le soluzioni di riferimento corrispondono ai limiti seguenti:

- benzene: 2 ppm
- tetracloruro di carbonio: 4 ppm,
- 1,2-dicloroetano: 5 ppm,
- 1,1-dicloroetene: 8 ppm,
- 1,1,1-tricloroetano: 10 ppm.

Soluzione del solvente (b). Disciogliere quantità appropriate dei solventi residui Classe 2 in *dimetilsolfossido R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire in modo da ottenere una concentrazione pari a 1/20 dei limiti indicati nella Tabella 2 (vedi 5.4. *Solventi residui*).

Soluzione del solvente (c). Disciogliere 1,00 g del solvente o dei solventi presenti nella sostanza da esaminare in *dimetilsolfossido R* o *acqua R*, se del caso, e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire in modo da ottenere una concentrazione pari a 1/20 dei limiti indicati nella Tabella 1 o 2 (vedi 5.4. *Solventi residui*).

Soluzione del bianco. Procedere come descritto per la soluzione del solvente (c) ma senza l'aggiunta del solvente o dei solventi (utilizzare questa soluzione per verificare l'assenza di picchi interferenti).

Soluzione in esame. Introdurre 5,0 ml della soluzione campione ed 1,0 ml della soluzione del bianco in una fiala da iniezione.

Soluzione di riferimento (a) (Classe 1). Introdurre 1,0 ml della soluzione del solvente (a) e 5,0 ml del diluente appropriato in una fiala da iniezione.

Soluzione di riferimento (a₁) (Classe 1). Introdurre 5,0 ml della soluzione campione e 1,0 ml della soluzione del solvente (a) in una fiala da iniezione.

Soluzione di riferimento (b) (Classe 2). Introdurre 1,0 ml della soluzione del solvente (b) e 5,0 ml del diluente appropriato in una fiala da iniezione.

Soluzione di riferimento (c). Introdurre 5,0 ml della soluzione campione e 1,0 ml della soluzione del solvente (c) in una fiala da iniezione.

Soluzione di riferimento (d). Introdurre 1,0 ml della soluzione del bianco e 5,0 ml del diluente appropriato in una fiala da iniezione.

Chiudere le fiale con una membrana di gomma a tenuta, rivestita di politetrafluoroetilene e fissare con la relativa ghiera in alluminio. Agitare per rendere omogenea la soluzione.

Si possono usare le seguenti condizioni a spazio di testa statico:

Parametri operativi	Procedura di preparazione del campione		
	1	2	3
Temperatura di equilibrio (°C)	80	105	80
Tempo di equilibrio (min)	60	45	45
Temperatura della linea di trasferimento (°C)	85	110	105
Gas di trasporto: <i>Azoto per cromatografia R o Elio per cromatografia R</i> ad una pressione appropriata			
Tempo di pressurizzazione (s)	30	30	30
Volume di iniezione (ml)	1	1	1

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

SISTEMA A

- una colonna capillare o semi-capillare in silice fusa, lunga 30 m e con diametro interno di 0,32 mm o di 0,53 mm, la cui parete interna è rivestita con uno

strato reticolato costituito dal 6 per cento di policianopropilfenilsilossano e dal 94 per cento di polidimetilsilossano (spessore dello strato 1,8-3 µm),

- *azoto per cromatografia R o elio per cromatografia R* come gas di trasporto, un rapporto di divisione 1:5, con una velocità lineare di circa 35 cm/s,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma (per i solventi residui clorurati di Classe 1 si può usare uno spettrometro di massa o un rivelatore a cattura di elettroni).

Mantenere la temperatura della colonna a 40 °C per 20 min, aumentarla di 10 °C per minuto fino a 240 °C e poi mantenerla a 240 °C per 20 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione a 140 °C e quella del rivelatore a 250 °C.

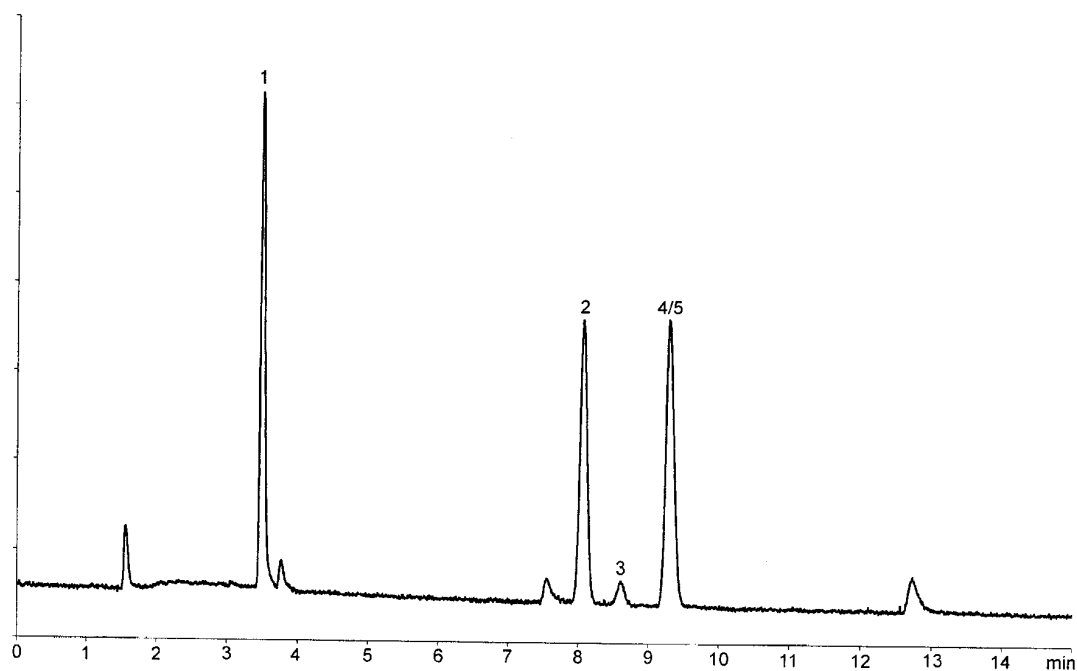
Nel caso di interferenza della matrice usare il:

SISTEMA B

- una colonna capillare o semi-capillare in silice fusa, lunga 30 m e con diametro interno di 0,32 mm o di 0,53 mm la cui parete interna è rivestita con *macrogol 20000 R* (spessore del rivestimento 0,25 µm),
- *azoto per cromatografia R o elio per cromatografia R* come gas di trasporto, un rapporto di divisione 1:5, con una velocità lineare di circa 35 cm/s,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma (per i solventi residui clorurati di Classe 1 si può usare uno spettrometro di massa o un rivelatore a cattura di elettroni).

Mantenere la temperatura della colonna a 50 °C per 20 min, poi aumentarla di 6 °C per minuto fino a 165 °C e mantenerla poi a 165 °C per 20 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione a 140 °C e quella del rivelatore a 250 °C.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (a) nella colonna descritta nel Sistema A e registrare il cromatogramma in condizioni tali che possa essere misurato il rapporto segnale/rumore per l'1,1,1-tricloroetano. Il rapporto segnale/rumore deve essere almeno pari a cinque. Un cromatogramma tipo è mostrato nella Figura 2.4.24.-1.



1. 1,1-dicloroetene 2. 1,1,1-tricloroetano 3. tetracloruro di carbonio 4. benzene 5. dicloroetano

Figura 2.4.24. -1 – Cromatogramma tipo dei solventi di Classe 1 ottenuto usando le condizioni descritte per il Sistema A e la Procedura 1. Rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (a_1) nella colonna descritta nel Sistema A. I picchi dovuti ai solventi residui di Classe 1 sono ancora rivelabili.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (b) nella colonna descritta nel Sistema A e registrare il cromatogramma in condizioni tali da determinare la risoluzione tra l'acetonitrile e il diclorometano. Il sistema è adatto se il cromatogramma ottenuto è simile al cromatogramma riportato nella Figura 2.4.24.-2 e la risoluzione tra l'acetonitrile e il diclorometano è almeno 1,0.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione in esame nella colonna descritta nel Sistema A. Se nel cromatogramma ottenuto, non c'è un picco che corrisponde ad uno dei picchi dei solventi residui dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione di riferimento (a) o (b), la sostanza in esame soddisfa i requisiti del saggio. Se un picco nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame corrisponde a uno dei picchi dei solventi residui ottenuti con la soluzione di riferimento (a) o (b) si deve usare il Sistema B.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (a) nella colonna descritta nel Sistema B e registrare il cromatogramma in modo da poter misurare il rapporto segnale/rumore per il benzene. Il rapporto segnale/rumore deve essere almeno cinque. Un cromatogramma tipo è mostrato nella Figura 2.4.24.-3.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (a_1) nella colonna descritta nel Sistema B. Sono ancora rivelabili i picchi dovuti ai solventi residui della Classe 1.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (b) nella colonna descritta nel Sistema B e registrare il cromatogramma in condizioni tali da determinare la risoluzione tra l'acetonitrile e il tricloroetilene. Il sistema è adatto se il cromatogramma ottenuto è simile al cromatogramma riportato nella Figura 2.4.24.-4 e la risoluzione tra l'acetonitrile e il tricloroetilene è almeno 1,0.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione in esame nella colonna descritta nel Sistema B. Se nel cromatogramma ottenuto non c'è un picco che corrisponde ad uno dei picchi dei solventi residui dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione di riferi-

mento (a) o (b), la sostanza in esame soddisfa i requisiti del saggio. Se un picco nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame corrisponde ad uno dei picchi dei solventi residui ottenuti con la soluzione di riferimento (a) o (b) e conferma la corrispondenza ottenuta usando il Sistema A, procedere come segue.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (c) nella colonna descritta per il Sistema A o il Sistema B. Se necessario, aggiustare la sensibilità del sistema in modo che l'altezza del picco corrispondente al solvente residuo identificato sia almeno il 50 per cento della scala totale del registratore.

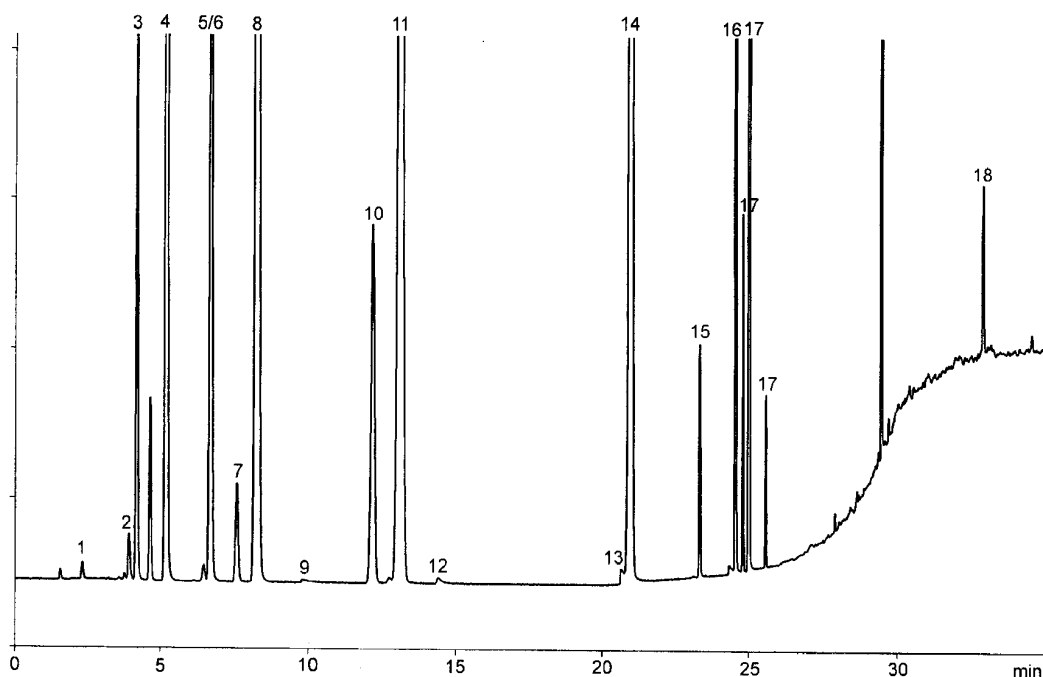
Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (d) nella colonna. Non dovrebbe essere osservato alcun picco interferente.

Iniettare 1 ml della fase gassosa della soluzione in esame e 1 ml della fase gassosa della soluzione di riferimento (c) nella colonna. Ripetere queste iniezioni per due volte.

L'area media del picco del solvente/i residuo/i nei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame non è maggiore della metà dell'area media del picco del solvente/i residuo/i corrispondente nei cromatogrammi ottenuti con la soluzione di riferimento (c). Il saggio è valido solo se la deviazione standard relativa delle differenze tra le aree dei picchi dell'analita ottenuti con le iniezioni ripetute per tre volte della soluzione di riferimento (c) e la soluzione in esame, è al massimo il 15 per cento.

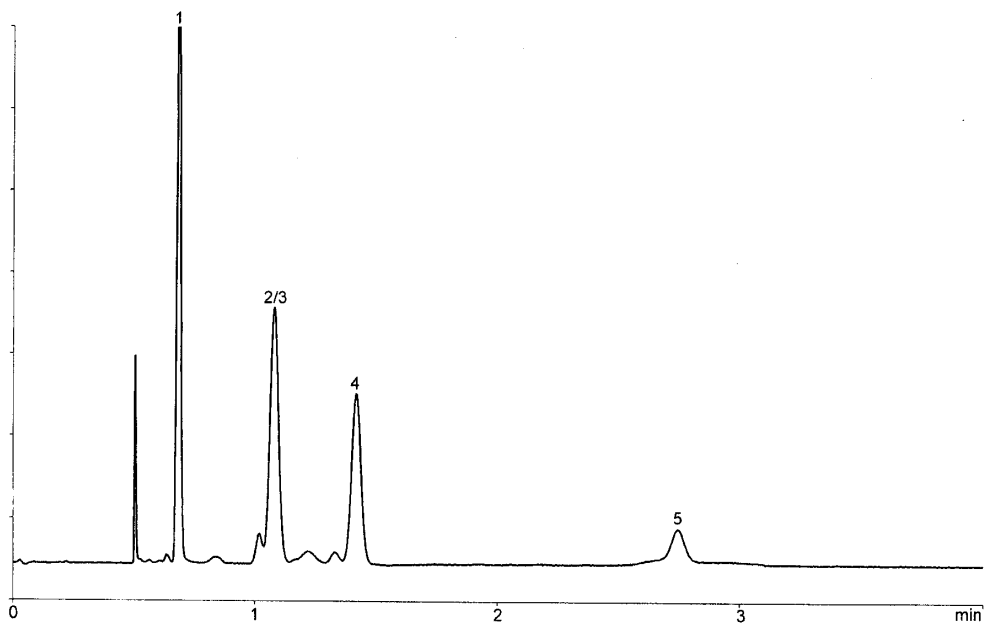
Un diagramma di flusso della procedura è mostrato nella Figura 2.4.24.-5.

Se un solvente residuo (Classe 2 o Classe 3) è presente ad un livello uguale o superiore allo 0,1 per cento, il contenuto può essere determinato quantitativamente mediante il metodo delle aggiunte standard.



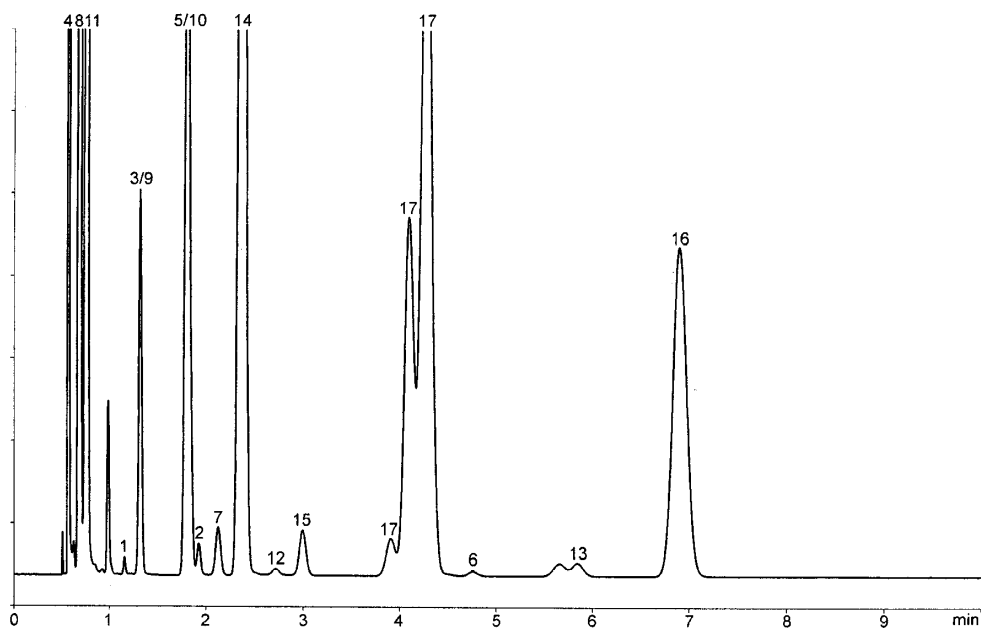
- | | | | | |
|------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------|--|
| 1. metanolo | 5. <i>cis</i> -1,2-dicloroetene | 9. 1,2-dimetossimetano | 13. piridina | 16. clorobenzene |
| 2. acetonitrile | 6. nitrometano | 10. 1,1,2-tricloroetene | 14. toluene | 17. xilene <i>orto</i> , <i>meta</i> , <i>para</i> |
| 3. diclorometano | 7. cloroformio | 11. metilcicloesano | 15. esanone | 18. tetralina |
| 4. esano | 8. cicloesano | 12. 1,4-diossano | | |

Figura 2.4.24. - 2 - Cromatogramma dei solventi residui di Classe 2 ottenuto usando le condizioni descritte per Sistema A e la Procedura 1. Rivelatore a ionizzazione di fiamma.



1. 1,1-dicloroetene 2. 1,1,1-tricloroetano 3. tetracloruro di carbonio 4. benzene 5. 1,2-dicloroetano

Figura 2.4.24. - 3 - Cromatogramma dei solventi residui di Classe 1 ottenuto usando le condizioni descritte per Sistema B e la Procedura 1. Rivelatore a ionizzazione di fiamma.



1. metanolo 5. *cis*-1,2-dicloroetene 9. 1,2-dimetossietano 13. piridina 16. clorobenzene
 2. acetonitrile 6. nitrometano 10. 1,1,2-tricloroeteno 14. toluene 17. xilene *orto, meta, para*
 3. diclorometano 7. cloroformio 11. metilcicloesano 15. esanone 18. tetralina ($t_r = 28$ min)
 4. esano 8. cicloesano 12. 1,4-diossano

Figura 2.4.24. - 4 - Cromatogramma dei solventi residui di Classe 2 ottenuto usando le condizioni descritte per Sistema B e la Procedura 1. Rivelatore a ionizzazione di fiamma.

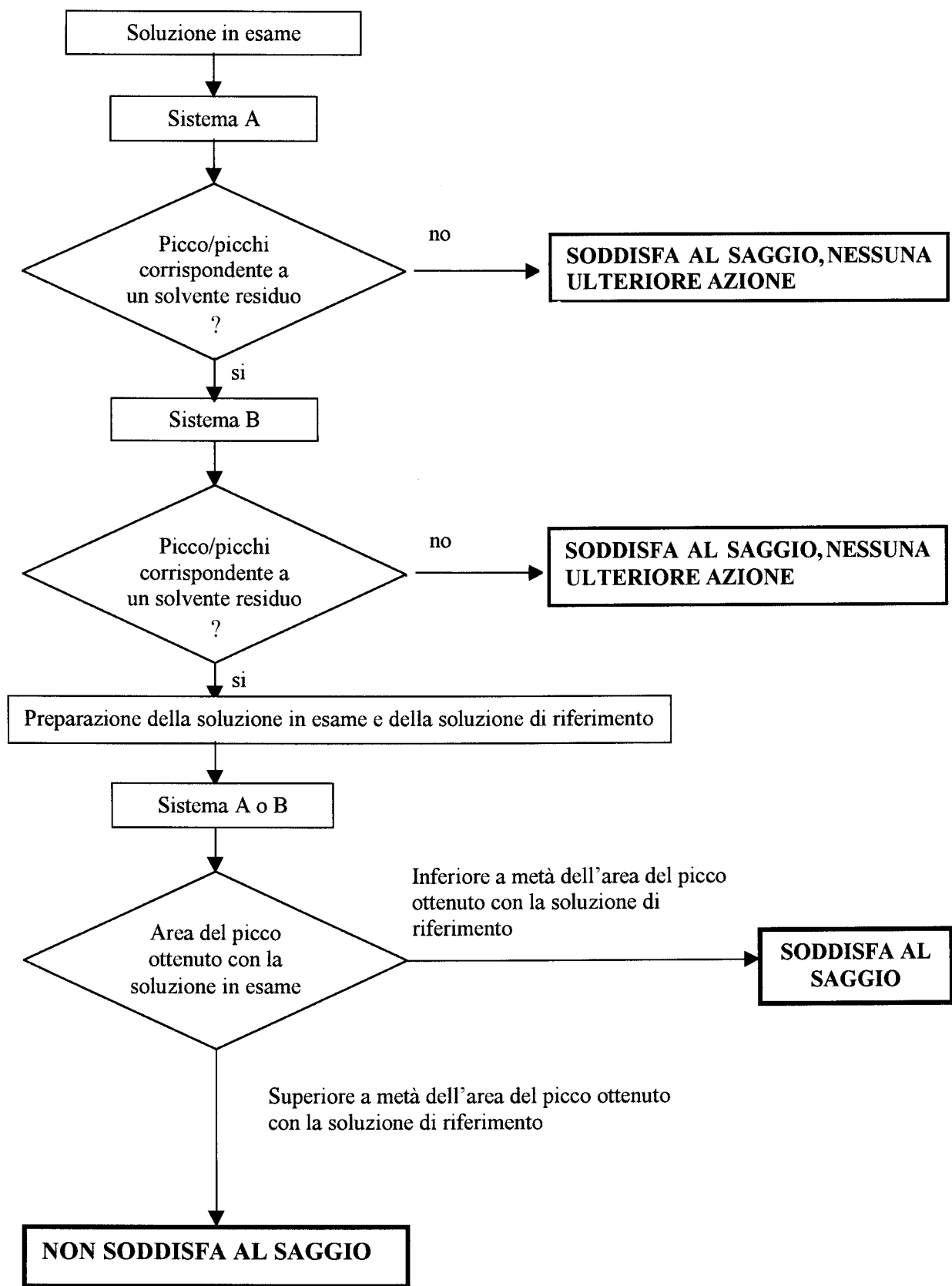


Figura 2.4.25.-5 - Diagramma per l'identificazione dei solventi residui e l'applicazione del saggio limite

2.4.25. ETILENE OSSIDO E DIOSSANO

Il saggio è destinato alla determinazione di residui dell'etilene ossido e del diossano in campioni solubili in acqua o in dimetilacetammide. Per le sostanze che sono insolubili o non sufficientemente solubili in questi solventi, la preparazione della soluzione campione e le condizioni di spazio di testa da impiegare sono date nella singola monografia.

Esaminare mediante gas cromatografia a spazio di testa (2.2.28).

A. Per i campioni solubili o miscibili con acqua, può essere usato il procedimento seguente.

Soluzione in esame. Pesare 1,00 g (M_T) della sostanza da esaminare in una fiala da 10 ml (possono essere usate altre dimensioni che dipendono dalle condizioni di operazione) e aggiungere 1,0 ml di *acqua R*. Chiudere e mescolare in modo da ottenere una soluzione omogenea. Lasciare a riposo a 70 °C per 45 min.

Soluzione di riferimento (a). Pesare 1,00 g (M_R) della sostanza da esaminare in una fiala identica da 10 ml, aggiungere 0,50 ml di *ossido di etilene soluzione R3* e 0,50 ml di *diossano soluzione R1*. Chiudere e mescolare in modo da ottenere una soluzione omogenea. Lasciare a riposo a 70 °C per 45 min.

Soluzione di riferimento (b). Introdurre 0,50 ml di *ossido di etilene soluzione R3* in una fiala da 10 ml, aggiungere 0,1 ml di una soluzione (10 mg/l) di *acetaldeide R*, preparata di recente, e 0,1 ml di *diossano soluzione R1*. Chiudere e mescolare in modo da ottenere una soluzione omogenea. Lasciare a riposo a 70 °C per 45 min.

B. Per i campioni solubili o miscibili con dimetilacetammide, può essere usato il procedimento seguente.

Soluzione in esame. Pesare 1,00 g (M_T) della sostanza da esaminare in una fiala da 10 ml (possono essere usate fiale di altre dimensioni in funzione delle condizioni di operazione) e aggiungere 1,0 ml di *dimetilacetammide R* e 0,20 ml di *acqua R*. Chiudere e mescolare in modo da ottenere una soluzione omogenea. Lasciare a riposo a 90 °C per 45 min.

Soluzione di riferimento (a). Pesare 1,00 g (M_R) della sostanza da esaminare in una fiala da 10 ml, aggiungere 1,0 ml di *dimetilacetammide R*, 0,10 ml di *diossano soluzione R* e 0,10 ml di *ossido di etilene soluzione R2*. Chiudere e mescolare in modo da ottenere una soluzione omogenea. Lasciare a riposo a 90 °C per 45 min.

Soluzione di riferimento (b). Introdurre 0,10 ml di *ossido di etilene soluzione R2* in una fiala da 10 ml, aggiungere

0,1 ml di una soluzione (10 mg/l) di *acetaldeide R*, preparata di recente, e 0,10 ml di *diossano soluzione R*. Chiudere e mescolare in modo da ottenere una soluzione omogenea. Lasciare a riposo a 70 °C per 45 min.

Possono essere usate le seguenti condizioni di iniezione a spazio di testa statico:

- temperatura di equilibrio: 70 °C (90 °C per le soluzioni in dimetilacetammide),
- tempo di equilibrio: 45 min,
- temperatura della linea di trasferimento: 75 °C (150 °C per le soluzioni in dimetilacetammide),
- gas di trasporto: *elio per cromatografia R*,
- tempo di pressurizzazione: 1 min,
- tempo di iniezione: 12 s.

Il procedimento cromatografico può essere effettuato usando:

- una colonna capillare di vetro o di quarzo lunga 30 m e con diametro interno di 0,32 mm la cui superficie interna è rivestita con uno strato di *polidimetilsilossano R* dello spessore di 1,0 µm,
- *elio per cromatografia R* o *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità lineare di circa 20 cm per secondo e un rapporto di partizione di 1:20,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 50 °C per 5 min, poi aumentarla di 5 °C per minuto fino a 180 °C; aumentarla ancora di 30 °C per minuto fino a 230 °C e mantenerla a 230 °C per 5 min; mantenere la temperatura della porta di iniezione a 150 °C e quella del rivelatore a 250 °C.

Iniettare un volume adatto, per esempio 1,0 ml, della fase gassosa della soluzione di riferimento (b). Aggiustare la sensibilità del sistema in modo che le altezze dei picchi dovuti all'etilene ossido e all'acetaldeide nel cromatogramma ottenuto siano almeno il 15 per cento della scala totale del registratore. Il saggio è valido solo se la risoluzione tra i picchi corrispondenti all'acetaldeide e all'ossido di etilene è almeno 2,0 e il picco del diossano è rivelato con un rapporto segnale-rumore di almeno 5.

Iniettare separatamente volumi adatti, per esempio 1,0 ml (o lo stesso volume usato per la soluzione di riferimento (b)), della fase gassosa della soluzione in esame e della soluzione di riferimento (a). Ripetere il procedimento ancora due volte.

Verifica della precisione

Per ciascuna iniezione in doppio, calcolare per l'ossido di etilene e per il diossano la differenza tra l'area dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e quella dei picchi ottenuti con la soluzione di riferimento (a).

Il saggio è valido solo se la deviazione standard relativa dei tre valori ottenuti per l'ossido di etilene non è superiore al 15 per cento e la deviazione standard relativa dei tre valori ottenuti per il diossano non è superiore al 10 per cento. Se le pesate usate per la soluzione in esame e la soluzione di riferimento differiscono di più dello 0,5 per cento da 1,00 g, devono essere fatte le dovute correzioni.

Il contenuto di ossido di etilene o di diossano in parti per milione è calcolato dall'espressione:

$$\frac{A_T \times C}{(A_R \times M_T) - (A_T \times M_R)}$$

A_T = area del picco corrispondente all'ossido di etilene nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame,

A_R = area del picco corrispondente all'ossido di etilene nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a),

M_T = massa della sostanza in esame nella soluzione in esame in grammi,

M_R = massa della sostanza in esame nella soluzione di riferimento in grammi,

C = la quantità dell'ossido di etilene aggiunto alla soluzione di riferimento (a) in microgrammi.

$$\frac{D_T \times C}{(D_R \times M_T) - (D_T \times M_R)}$$

D_T = area del picco corrispondente al diossano nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame,

D_R = area del picco corrispondente al diossano nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a),

C = la quantità di diossano aggiunto alla soluzione di riferimento (a) in microgrammi.

2.4.26. N,N-DIMETILANILINA

A. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), usando *N,N-dietilanilina R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Disciogliere 50 mg di *N,N-dietilanilina R* in 4 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e diluire a 50 ml con *acqua R*. Diluire 1 ml di questa soluzione a 100 ml con *acqua R*.

Soluzione in esame. In un tubo con tappo a smeriglio disciogliere 0,50 g della sostanza da esaminare in

30,0 ml di *acqua R*. Aggiungere 1,0 ml della soluzione dello standard interno. Portare ad una temperatura di 26-28 °C. Aggiustare 1,0 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* e mescolare fino a dissoluzione completa. Aggiungere 2,0 ml di *trimetilpentano R*. Agitare per 2 min e lasciar separare le fasi. Usare lo strato superiore.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50,0 mg di *N,N-dimetilanilina R* in 4,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e diluire a 50,0 ml con *acqua R*. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 30,0 ml con *acqua R*. Aggiungere 1,0 ml della soluzione dello standard interno e 1,0 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Aggiungere 2,0 ml di *trimetilpentano R*. Agitare per 2 min e lasciare separare le fasi. Usare lo strato superiore.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 25 m e con diametro interno di 0,32 mm rivestita con *polimetilfenilsilossano R* reticolato (spessore della pellicola 0,52 µm),
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto, con un rapporto di partizione 1:20, una colonna con una pressione di testa di 50 kPa e una valvola di flusso di 20 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- una linea di flusso costituita da una colonna lunga circa 1 cm impaccata con *terra d'infusori per gas cromatografia R* impregnata con il 10 per cento *m/m* di *olidimetilsilossano R*.

Mantenere la temperatura della colonna a 150 °C per 5 min, aumentarla di 20 °C per minuto fino a 275 °C e mantenerla a 275 °C per 3 min; mantenere la temperatura del rivelatore a 300 °C e quella della porta di iniezione a 220 °C.

I tempi di ritenzione sono: *N,N-dimetilanilina* circa 3,6 min, *N,N-dietilanilina* circa 5,0 min.

Iniettare 1 µl della soluzione in esame e 1 µl della soluzione di riferimento.

B. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), usando *naftalene R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Disciogliere 50 mg di *naftalene R* in *cicloesano R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Diluire 5 ml di questa soluzione a 100 ml con *cicloesano R*.

Soluzione in esame. Aggiungere 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e 1,0 ml della soluzione dello standard interno a

1,00 g della sostanza da esaminare in un tubo con tappo a smeriglio. Chiudere il tubo e agitare vigorosamente per 1 min. Centrifugare se necessario e usare lo strato superiore.

Soluzione di riferimento. Aggiungere 2 ml di *acido cloridrico R* e 20 ml di *acqua R* a 50,0 mg di *N,N-dimetilammina R*, agitare per disciogliere e diluire a 50,0 ml con *acqua R*. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 250,0 ml con *acqua R*. Trasferire 1,0 ml di quest'ultima soluzione in un tubo con tappo a smeriglio e aggiungere 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e 1,0 ml della soluzione dello standard interno. Chiudere il tubo e agitare vigorosamente per 1 min. Centrifugare se necessario e usare lo strato superiore.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito utilizzando:

- una colonna di vetro lunga 2 m e con diametro interno di 2 mm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con il 3 per cento *m/m* di *polimetilfenilsilossano R*,
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 30 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 120 °C e quella della porta di iniezione e del rivelatore a 150 °C.

Iniettare 1 µl della soluzione in esame e 1 µl della soluzione di riferimento.

2.4.27. METALLI PESANTI NELLE DROGHE VEGETALI E NEGLI OLI GRASSI

Esaminare mediante spettrometria di assorbimento atomico (2.2.23).

AVVERTENZE: se sono usati recipienti di digestione chiusi ad alta pressione ed apparecchiature di laboratorio a microonde, si devono conoscere le istruzioni di sicurezza e di operazione date dal produttore.

APPARECCHIATURA

L'apparecchiatura è costituita tipicamente da:

- per la mineralizzazione, palloni di politetrafluoroetilene del volume di 120 ml circa, chiusi con una chiusura ermetica, con una valvola per aggiustare la pressione all'interno del contenitore e un tubo di politetrafluoroetilene per la fuoriuscita del gas,
- un sistema per la chiusura ermetica dei palloni che applica la stessa forza di torsione per ciascuno di essi,
- un forno a microonde con una frequenza del magnetron di 2450 MHz, con un sistema per selezionare gli incrementi di potenza dell'1 per cento da 0 a

630 ± 70 W, un computer digitale programmabile, una cavità a microonde rivestita di politetrafluoroetilene con un sistema a piano rotante, un ventilatore a velocità regolabile e un apparato tubolare per la fuoriuscita del gas,

- uno spettrometro di assorbimento atomico equipaggiato con lampade a catodo cavo come sorgente di radiazione e una lampada al deuterio come correttore del fondo; il sistema è munito di:
 - (a) un forno di grafite come dispositivo di atomizzazione per il cadmio, il rame, il ferro, il piombo, il nichel e lo zinco;
 - (b) un sistema automatico di generazione dei vapori di idruri a flusso continuo per l'arsenico e il mercurio.

METODO

Nel caso sia utilizzato un apparecchio alternativo può essere necessario un aggiustamento dei parametri dello strumento.

Lavare prima dell'uso tutta la vetreria e la strumentazione di laboratorio con una soluzione (10 g/l) di *acido nitrico R*.

Soluzione in esame. In un pallone per la mineralizzazione introdurre la quantità prescritta di sostanza in esame (circa 0,50 g di droga polverizzata (1400) o 0,50 g di olio grasso). Aggiungere 6 ml di *acido nitrico esente da metalli pesanti R* e 4 ml di *acido cloridrico esente da metalli pesanti R*. Chiudere ermeticamente il pallone.

Porre i palloni per la mineralizzazione nel forno a microonde. Effettuare la mineralizzazione in 3 fasi secondo il programma seguente, usato per 7 palloni contenenti ciascuno la soluzione in esame: 80 per cento di potenza per 15 min, 100 per cento di potenza per 5 min, 80 per cento di potenza per 20 min.

Alla fine del ciclo lasciar raffreddare i palloni all'aria e a ciascuno aggiungere 4 ml di *acido solforico esente da metalli pesanti R*. Ripetere il programma di mineralizzazione. Dopo raffreddamento all'aria aprire ciascun pallone per la mineralizzazione e trasferire la soluzione limpida ed incolore ottenuta in un pallone tarato da 50 ml. Lavare ciascun pallone per la mineralizzazione con 2 porzioni, ciascuna di 15 ml, di *acqua R* e raccogliere le acque di lavaggio nel pallone tarato. Aggiungere 1,0 ml di una soluzione (10 g/l) di *magnesio nitrato R* e 1,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *ammonio fosfato monobasico R* e diluire a 50,0 ml con *acqua R*.

Soluzione del bianco. Mescolare 6 ml di *acido nitrico esente da metalli pesanti R* e 4 ml di *acido cloridrico*

esente da metalli pesanti *R* in un pallone di mineralizzazione. Effettuare la mineralizzazione nello stesso modo della soluzione in esame.

CADMIO, RAME, FERRO, PIOMBO, NICHEL E ZINCO

Misurare il contenuto di cadmio, rame, ferro, piombo, nichel e zinco con il metodo delle aggiunte standard (2.2.23, *Metodo II*) utilizzando le soluzioni di riferimento di ciascun metallo pesante e i parametri strumentali descritti nella tabella 2.4.27.-1.

Il valore di assorbanza della soluzione del bianco è automaticamente sottratta dal valore ottenuto con la soluzione in esame.

Tabella 2.4.27.-1.

		Cd	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Lunghezza d'onda	nm	228,8	324,8	248,3	232	283,5	213,9
Ampiezza di fenditura	nm	0,5	0,5	0,2	0,2	0,5	0,5
Corrente della lampada	mA	6	7	5	10	5	7
Temperatura di calcinazione	°C	800	800	800	800	800	800
Temperatura di atomizzazione	°C	1800	2300	2300	2500	2200	2000
Correttore del fondo		si	no	no	no	no	no
Flusso di azoto	l/min	3	3	3	3	3	3

ARSENICO E MERCURIO

Misurare il contenuto di arsenico e di mercurio in confronto con le soluzioni di riferimento di arsenico e di mercurio a concentrazione nota mediante calibrazione diretta (2.2.23, *Metodo I*) usando un sistema automatico di generazione a flusso continuo dei vapori di idruri.

Il valore di assorbanza della soluzione del bianco è sottratta automaticamente dal valore ottenuto con la soluzione in esame.

Arsenico

Soluzione campione. A 19,0 ml della soluzione in esame o della soluzione del bianco come precedentemente prescritto, aggiungere 1 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R*. Lasciare a riposo la soluzione in esame a temperatura ambiente per circa 50 min o a 70 °C per 4 min.

Reattivo acido. Acido cloridrico esente da metalli pesanti *R*.

Reattivo riducente. Una soluzione (6 g/l) di *sodio tetraidroborato R* in una soluzione (5 g/l) di *sodio idrossido R*.

Possono essere usati i parametri strumentali in tabella 2.4.27.-2.

Mercurio

Soluzione campione. La soluzione in esame o la soluzione campione come prescritto precedentemente.

Reattivo acido. Una soluzione (515 g/l) di *acido cloridrico esente da metalli pesanti R*.

Reattivo riducente. Una soluzione (10 g/l) di *stagno (-oso) cloruro R* in *acido cloridrico diluito esente da metalli pesanti R*.

Possono essere usati i parametri strumentali riportati in tabella 2.4.27.-2.

Tabella 2.4.27.-2.

		As	Hg
Lunghezza d'onda	nm	193,7	253,7
Ampiezza di fenditura	nm	0,2	0,5
Corrente di lampada	mA	10	4
Velocità di flusso del reattivo acido	ml/min	1,0	1,0
Velocità di flusso del reattivo riducente	ml/min	1,0	1,0
Velocità di flusso della soluzione campione	ml/min	7,0	7,0
Cella di assorbimento		Quarzo (riscaldato)	Quarzo (non riscaldato)
Correttore del fondo		no	no
Velocità di flusso dell'azoto	l/min	0,1	0,1

2.4.28. ACIDO 2-ETILESANOICO

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), usando l'*acido 3-cicloesilpropionico R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Disciogliere 100 mg di *acido 3-cicloesilpropionico R* in *cicloesano R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Soluzione in esame. Aggiungere 4,0 ml di una soluzione al 33 per cento *V/V* di *acido cloridrico R* a 0,300 g della sostanza da esaminare. Agitare vigorosamente per 1 min con 1,0 ml della soluzione dello standard interno. Lasciar separare le fasi (se necessario, centrifugare per una migliore separazione). Usare lo strato superiore.

Composizione degli acidi grassi negli oli ricchi di acidi omega-3

Soluzione di riferimento. Disciogliere 75,0 mg di *acido 2-etilesanoico R* nella soluzione dello standard interno e diluire a 50,0 ml con la stessa soluzione. A 1,0 ml della soluzione ottenuta aggiungere 4,0 ml di una soluzione al 33 per cento V/V di *acido cloridrico R*. Agitare vigorosamente per 1 min. Lasciar separare le fasi (se necessario, centrifugare per una migliore separazione). Usare lo strato superiore.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito utilizzando:

- una colonna di silice fusa di grosso calibro lunga 10 m e con diametro interno di 0,53 mm rivestita con *macrogol 20000 2-nitrotetralato R* (spessore della pellicola 1,0 µm),
 - *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 10 ml/min,
 - un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- con il seguente programma di temperatura:

	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Intervallo (°C/min)	Commento
Colonna	0 - 2	40	-	isoterma
	2 - 7,3	40→200	30	gradiente lineare
	7,3 - 10,3	200	-	isoterma
Porta di iniezione		200		
Rivelatore		300		

Iniettare 1 µl della soluzione in esame e 1 µl della soluzione di riferimento.

Il saggio è valido solo se la risoluzione tra i picchi corrispondenti all'acido 2-etilesanoico (primo picco) e allo standard interno è almeno 2,0.

Calcolare il contenuto percentuale di acido 2-etilesanoico mediante l'espressione:

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

A_T = area del picco corrispondente all'acido 2-etilesanoico nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame,

A_R = area del picco corrispondente all'acido 2-etilesanoico nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento,

I_T = area del picco corrispondente allo standard interno nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame,

I_R = area del picco corrispondente allo standard interno nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento,

m_T = massa della sostanza da esaminare nella soluzione in esame in grammi,

m_R = massa dell'acido 2-etilesanoico nella soluzione di riferimento in grammi.

2.4.29. COMPOSIZIONE IN ACIDI GRASSI DEGLI OLI RICCHI DI ACIDI OMEGA-3

Il dosaggio può essere usato per la determinazione quantitativa del contenuto di EPA e DHA nei prodotti a base di olio di pesce contenenti gli acidi omega-3 a differenti concentrazioni. Il metodo si applica ai trigliceridi e agli esteri etilici e i risultati sono espressi rispettivamente in trigliceridi o in esteri etilici.

EPA E DHA.

Gas cromatografia (2.2.28). Effettuare le operazioni il più rapidamente possibile evitando l'esposizione alla luce attinica, agli agenti ossidanti, ai catalizzatori di ossidazione (per esempio rame e ferro) e all'aria.

Il dosaggio è effettuato sugli esteri metilici o etilici dell'acido (tutto-Z)-eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoico (EPA; 20:5 n-3) e dell'acido (tutto-Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-esaenoico (DHA; 22:6 n-3) nella sostanza in esame.

Standard interno. Metile tricosanoato R.

Soluzione in esame (a).

- A. Disciogliere una quantità di campione in esame come quella indicata nella tabella 2.4.29.-1 e circa 70,0 mg di standard interno in una soluzione (50 mg/l) di *butilidrossitoluene R* in *trimetilpentano R* e diluire a 10,0 ml con la stessa soluzione.

Tabella 2.4.29.-1.

Somma approssimativa EPA + DHA (per cento)	Quantità di campione da pesare (grammi)
30-50	0,4-0,5
50-70	0,3
70-90	0,25

Gli esteri etilici sono ora pronti per l'analisi. Per i trigliceridi continuare come descritto in fase B.

- B. Introdurre 2,0 ml della soluzione ottenuta in un tubo di quarzo ed evaporare il solvente con una debole corrente di *azoto R*. Aggiungere 1,5 ml di una soluzione (20 g/l) di *sodio idrossido R* in *metanolo R*, immettere *azoto R*, chiudere ermeticamente con una capsula doppia di politetrafluoroetilene, mescolare e riscaldare a b.m. per 7 min. Lasciare raffreddare. Aggiungere 2 ml di *boro triclورو-metanolo soluzione R*, immettere *azoto R*, chiudere ermeticamente, mescolare e scaldare a b.m. per 30 min. Raffreddare a 40-50 °C, aggiungere 1 ml di *trimetilpentano R*, chiudere e agitare energicamente per almeno 30 s. Aggiungere immediatamente 5 ml di *sodio cloruro solu-*

zione satura *R*, immettere azoto *R*, chiudere ed agitare accuratamente per almeno 15 s. Trasferire lo strato superiore in un altro tubo. Agitare lo strato metanolico ancora una volta con 1 ml di *trimetilpentano R*. Riunire gli estratti di *trimetilpentano* e lavare con 2 quantità, ciascuna di 1 ml, di *acqua R* ed essiccare su *sodio solfato anidro R*. Preparare 3 soluzioni per ciascun campione.

Soluzione in esame (b). Disciogliere 0,300 g del campione in esame in una soluzione (50 mg/l) di *butilidrossitoluene R* in *trimetilpentano R* e diluire a 10,0 ml con la stessa soluzione. Procedere come prescritto nella soluzione in esame (a).

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 60,0 mg di *acido docosaesaenoico estere etilico SCR*, 70,0 mg circa dello standard interno e 90,0 mg di *acido eicosapentaenoico estere etilico SCR* in una soluzione (50 mg/l) di *butilidrossitoluene R* in *trimetilpentano R* e diluire a 10,0 ml con la stessa soluzione. Procedere come descritto per la soluzione in esame (a) nel punto A per l'analisi degli esteri etilici. Per l'analisi dei trigliceridi continuare con il punto B operando nello stesso modo della soluzione in esame (a) e preparare 3 soluzioni per ciascun campione.

Soluzione di riferimento (b). In un pallone tarato da 10 ml disciogliere 0,3 g di *metile palmitato R*, 0,3 g di *metile stearato R*, 0,3 g di *metile arachidato R* e 0,3 g di *metile beenato R* in una soluzione (50 mg/l) di *butilidrossitoluene R* in *trimetilpentano R* e diluire a 10,0 ml con la stessa soluzione.

Soluzione di riferimento (c). In un pallone tarato da 10 ml disciogliere un campione contenente circa 55,0 mg di *acido docosaesaenoico estere metilico R* e circa 5,0 mg di *acido tetracos-15-enoico estere metilico R* in una soluzione (50 mg/l) di *butilidrossitoluene R* in *trimetilpentano R* e diluire a 10,0 ml con la stessa soluzione.

Colonna

- *materiale*: silice fusa,
- *dimensioni*: l = almeno 25 m, \varnothing = 0,25 mm,
- *fase stazionaria*: *macrogol 20000 R* a fase legata (spessore del film 0,2 μ m)

Gas di trasporto: *idrogeno per cromatografia R* o *elio per cromatografia R*.

Velocità di flusso: 1 ml/min.

Rapporto di divisione: 1:200, o senza divisione con controllo della temperatura (è necessario diluire le soluzioni a 1/200 con una soluzione (50 mg/l) di *butilidrossitoluene R* in *trimetilpentano R* prima dell'iniezione).

Temperatura:

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
Colonna	0-2	170
	2 - 25,7	170 → 240
	25,7 - 28	240
Camera di iniezione		250
Rivelatore		270

Rivelazione: ionizzazione di fiamma.

Iniezione: per 2 volte 1 μ l.

Idoneità del sistema:

- nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) la composizione percentuale dell'area aumenta nel seguente ordine: metile palmitato, metile stearato, metile arachidato, metile beenato; la differenza tra la percentuale dell'area del metile palmitato e quella del metile beenato è inferiore a 2,0 unità percentuali di area,
- *risoluzione*: minimo di 1,2 tra i picchi dovuti all'acido docosaesaenoico estere metilico e all'acido tetracos-15-enoico estere metilico nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (c),
- nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a), i picchi dovuti al metile tricosanoato e all'estere metilico o etilico dell'acido eicosapentaenoico (C21:5), per confronto con la soluzione in esame (b), sono nettamente separati (in caso contrario deve essere apportato un fattore di correzione).

Calcolare il contenuto percentuale di EPA e DHA usando l'espressione riportata di seguito e considerando il valore dichiarato delle sostanze di riferimento:

$$A_x \times \frac{A_3}{m_3} \times \frac{m_1}{A_1} \times \frac{m_{x,r}}{A_{x,r}} \times \frac{1}{m_2} \times C \times 100$$

m_1 = massa dello standard interno nella soluzione in esame (a) in milligrammi,

m_2 = massa del campione da esaminare nella soluzione in esame (a) in milligrammi,

m_3 = massa dello standard interno nella soluzione di riferimento (a) in milligrammi,

$m_{x,r}$ = massa dell'acido eicosapentaenoico estere etilico SCR o dell'acido docosaesaenoico estere etilico SCR nella soluzione di riferimento (a) in milligrammi,

A_x = area del picco dovuto all'estere dell'acido eicosapentaenoico o all'estere dell'acido docosaesaenoico nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a),

$A_{x,r}$ = area del picco dovuto all'estere dell'acido eicosapentaenoico o all'estere dell'acido docosaesaenoico nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a),

A_I = area del picco dovuto allo standard interno nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a),

A_3 = area del picco dovuto allo standard interno nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a)

C = fattore di conversione tra l'estere etilico e i trigliceridi

$C = 1,00$ per gli esteri etilici,

$C = 0,954$ per EPA

$C = 0,957$ per DHA

ACIDI OMEGA-3 TOTALI

Calcolare il contenuto percentuale degli acidi omega-3 totali dal dosaggio di EPA e DHA usando l'espressione riportata di seguito ed identificando i picchi mediante i cromatogrammi:

$$EPA + DHA + \frac{A_{n-3}(EPA + DHA)}{A_{EPA} + A_{DHA}}$$

EPA = contenuto percentuale di EPA

DHA = contenuto percentuale di DHA

A_{n-3} = somma delle aree dei picchi dovuti agli esteri metilici C18:3 n-3, C18:4 n-3, C20:4 n-3, C21:5 n-3 e C22:5 n-3 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b),

A_{EPA} = area del picco dovuto agli esteri di EPA nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b),

A_{DHA} = area del picco dovuto agli esteri di DHA nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b).

2.4.30. GLICOLE ETILENICO E GLICOLE DIETILENICO NELLE SOSTANZE ETOSSILATE

Le sostanze etossilate possono contenere quantità variabili di etilenglicole e di dietilenglicole come risultato del procedimento di fabbricazione. I metodi di seguito descritti possono essere utilizzati per la determinazione quantitativa di queste sostanze particolarmente nel caso dei seguenti surfattanti: macroglicol ricinoleato, macroglicol idrossistearato, macrogol 15 idrossistearato, nonoxinolo 9 e macrogol cetostearil etere.

Gas cromatografia (2.2.28)

Soluzione dello standard interno. Disciogliere 30,0 mg di 1,2 - pentandiolo R in acetone R e diluire a 30,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 20,0 ml con acetone R.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,500 g della sostanza in esame in 10,0 ml della soluzione dello standard interno.

Soluzione di riferimento (a). Miscelare 30,0 mg di etilenglicol R con acetone R e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml a 10,0 ml con la soluzione dello standard interno.

Soluzione di riferimento (b). Preparare una soluzione di dietilenglicol R con una concentrazione corrispondente al limite prescritto e utilizzando gli stessi solventi come per la preparazione della soluzione di riferimento (a).

Colonna:

– materiale: silice fusa,

– dimensioni: $l = 30$ m, $\varnothing = 0,53$ mm,

– fase stazionaria: macrogol 20000 R (spessore del film 1 μ m).

Gas di trasporto: elio per cromatografia R.

Velocità di flusso: 10 ml/min.

Rapporto di divisione: 1:3.

Temperatura:

	Tempo (min.)	Temperatura (°C)
Colonna	0-40	80 → 200
	40-45	200 → 230
	45-65	230
Camera di iniezione		250
Rivelatore		250

Rivelazione: ionizzazione di fiamma.

Iniezione: 2 μ l.

Tempi di ritenzione relativi con riferimento all'1,2-pentanodiolo (tempo di ritenzione = circa 19 min): etilenglicole = circa 0,7; dietilenglicol = circa 1,3.

2.4.31. NICHEL NEGLI OLI VEGETALI IDROGENATI

Spettrometria di assorbimento atomico (2.2.23, Metodo I).
AVVERTENZA: Quando nella esecuzione di processi di digestione si usano recipienti chiusi ad alta pressione e stufe a microonde è opportuno essere a conoscenza delle istruzioni, fornite dai costruttori, relative alla manualità e sicurezza.

Il contenuto di nichel nei reattivi magnesio nitrato R ed ammonio diidrogeno fosfato R deve essere controllato prima del loro uso in modo da tenerne conto nel calcolo del contenuto di nichel nel campione in esame.

Soluzione in esame. Pesare 0,250 g (*m*) della sostanza in esame in un adeguato recipiente per digestione resistente ad alta pressione (fluoropolimero o quarzo), aggiungere 6,0 ml di *acido nitrico esente da nichel R* e 2,0 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*. Preparare una soluzione in bianco nello stesso modo. Mettere i recipienti chiusi in un forno a micro-onde da laboratorio e digerire con un appropriato programma, ad esempio 1000 W per 40 min.

Lasciar raffreddare il recipiente per digestione prima di aprirlo. Aggiungere 2,0 ml di *soluzione forte di perossido di idrogeno R* e ripetere il processo di digestione. Lasciar raffreddare il recipiente per digestione prima di aprirlo. Trasferire quantitativamente in un pallone tarato da 25,0 ml, aggiungere 0,5 ml di una soluzione 10g/l di *magnesio nitrato R* e 0,5 ml di una soluzione 100 g/l di *ammonio diidrogeno fosfato R*, diluire a 25,0 ml con *acqua per cromatografia R* e mescolare.

Soluzione di riferimento. In 4 palloni tarati (da 25,0 ml) introdurre 25µl, 50µl, 75µ e 100µ di *soluzione standard di nichel (5 ppm Ni) R*. A ciascun pallone aggiungere 0,5 ml di una soluzione 10 g/l di *magnesio nitrato R*, 0,5 ml di una soluzione 100 g/l di *ammonio diidrogeno fosfato R* e 6,0 ml di *acido nitrico esente da nichel R*; diluire a 25,0 ml con *acqua per cromatografia R*. Mescolare per ottenere soluzioni di riferimento contenenti rispettivamente 5 ng/ml, 10 ng/ml, 15 ng/ml e 20 ng/ml (ppb) di nichel.

Soluzione per l'azzeramento. In un pallone tarato (50,0 ml), introdurre 1,0 ml di una soluzione 10 g/l di *nitrato magnesio R*, 1,0 ml di una soluzione 100 g/l di *ammonio diidrogeno fosfato R* e 12,0 ml di *acido nitrico esente da nichel R*. Diluire a 50,0 ml con *acqua per cromatografia R* e mescolare.

Metodo. Determinare l'assorbanza di ciascuna soluzione a 232,0 nm usando un appropriato spettrometro per assorbimento atomico con fornetto di grafite dotato di un sistema per la compensazione del fondo, un tubo piroliticamente ricoperto ed una lampada di nichel a catodo cavo.

Mantenere la temperatura di essiccamento del fornetto a 120 °C per 35 s dopo una rampa di 5 s, la temperatura di incenerimento a 1100 °C per 10 s dopo una rampa di 30 s, la temperatura di raffreddamento a 800 °C per 5 s dopo un decremento di 5 s e la temperatura di atomizzazione a 2600 °C per 7 s.

Azzerare lo strumento mediante la soluzione per l'azzeramento.

Utilizzando la curva di calibrazione, determinare le concentrazioni della soluzione in esame e della soluzione per la determinazione del bianco dai corrispondenti assorbimenti. Se necessario diluire con la soluzione per l'azzeramento per ottenere una lettura entro il range di assorbanze calibrato.

Calcolare il contenuto di Ni in microgrammi per grammo (ppm) usando la seguente espressione:

$$\frac{c \times f}{m \times 40}$$

c = concentrazione di nichel misurata, in monogrammi per millilitro;

f = fattore di diluizione della soluzione in esame ;

m = massa della sostanza in esame, in grammi.

2.4.32. COLESTEROLO TOTALE NEGLI OLI RICCHI IN ACIDI OMEGA-3

Questo metodo può essere usato per la determinazione quantitativa della somma del colesterolo libero e del colesterolo esterificato nei prodotti a base di oli di pesce ricchi in acidi omega-3 (come esteri etilici o trigliceridi).

Gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione madre dello standard interno. Disciogliere 0,15 g di (5α)-*colestano R* in *eptano R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di lavoro dello standard interno. Preparare la soluzione immediatamente prima dell'uso.

Diluire 1,0 ml della soluzione madre dello standard interno a 10,0 ml con *eptano R*.

Soluzione madre di colesterolo. Disciogliere 30,0 mg di *colesterolo R* in *eptano R* e diluire 10,0 ml con lo stesso solvente. La soluzione è ripartita in flaconi per gas cromatografia e può essere conservata in congelatore fino a 6 mesi.

Soluzione di lavoro di colesterolo. Preparare la soluzione immediatamente prima dell'uso.

Diluire 1,0 ml della soluzione madre di colesterolo a 10,0 ml con *eptano R*.

Soluzione di α-tocoferolo. Diluire 15,0 mg di *α-tocoferolo R* a 10,0 ml con *eptano R*.

Colesterolo totale negli oli ricchi in acidi omega-3

Soluzione in esame. Pesare 0,100 g di sostanza da esaminare in un tubo di quarzo⁽¹⁾. Aggiungere 1,0 ml di soluzione madre o di soluzione di lavoro dello standard interno a secondo del supposto contenuto di colesterolo nell'olio (vedi Tabella 2.4.32.-1). Evaporare a secco su blocco riscaldante a 50 °C sotto una leggera corrente di azoto, mescolando. Aggiungere 0,5 ml di una soluzione al 50 per cento di *potassio idrossido R* e 3,0 ml di *etanolo (96 per cento) R*. Riempire il tubo con *azoto R* e chiuderlo. Riscaldare di nuovo su blocco riscaldante a 100 °C per 1 h agitando. Raffreddare per circa 10 min ed aggiungere 6 ml di *acqua distillata R*. Estrarre per 4 volte con 2,5 ml di *etere R* agitando ogni volta per 1 min mediante un mescolatore a vortice. Trasferire la fase eterea in un tubo da centrifuga sufficientemente grande o in un imbuto separatore e lavare gli estratti riuniti con 5 ml di *acqua distillata R* mescolando accuratamente per un dato numero di volte, ad esempio 60 volte⁽²⁾. Eliminare la fase acquosa, aggiungere alla fase eterea 5 ml di una soluzione al 3 per cento di *potassio idrossido R* e mescolare cautamente per 20 volte. Eliminare la fase acquosa, aggiungere altri 5 ml di *acqua distillata R* mescolare ancora cautamente per altre 20 volte. Trasferire la fase eterea in un piccolo tubo da centrifuga evitando qualsiasi trasferimento di acqua. Se durante il processo si forma una emulsione, aggiungere una piccola quantità di *sodio cloruro R* in modo da ottenere la separazione delle fasi.

Evaporare a secco in leggera corrente di azoto riscaldando con cautela. Disciogliere il residuo in 600 µl di *acetato di etile R*.

In base al supposto contenuto di colesterolo nell'olio, la soluzione è ulteriormente diluita come segue:

- contenuto minore di 3 mg/g: diluire 200 µl di soluzione a 2,0 ml con *acetato di etile R*;
- contenuto maggiore o uguale a 3 mg/g: diluire 20 µl di soluzione a 2,0 ml con *acetato di etile R*.

Soluzione di riferimento (a). In un tubo di quarzo da 15 ml, trasferire 1,0 ml di soluzione madre o di soluzione di lavoro dello standard interno e 1,0 ml di soluzione madre o di soluzione di lavoro di colesterolo a secondo del supposto contenuto di colesterolo nell'olio (vedi Tabella 2.4.32.-1) e continuare come descritto per la soluzione in esame, a partire da “Evaporare a secco su un blocco riscaldante...”.

¹⁾ Tubi di quarzo da VWR (numero di catalogo 103137-10).

²⁾ Un IKA Vibrax VXR può essere usato in sostituzione di una agitazione manuale.

Soluzione di riferimento (b). Mescolare 1,0 ml di soluzione madre di colesterolo e 2,0 ml della soluzione di α -tocoferolo in un appropriato pallone. Evaporare a secco in leggera corrente di azoto riscaldando con cautela. Disciogliere il residuo *acetato di etile R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. La soluzione può essere conservata in congelatore fino a 6 mesi.

Tabella 2.4.32.-1. - Preparazione della soluzione in esame e delle soluzioni di riferimento

	Soluzione in esame		Soluzione di riferimento (a)		Soluzione di riferimento (b)
	minore di 3 mg/g	maggiore o uguale a 3 mg/g	minore di 3 mg/g	maggiore o uguale a 3 mg/g	
Soluzione madre dello standard interno	-	+	-	+	-
Soluzione di lavoro dello standard interno	+	-	+	-	-
Soluzione madre di colesterolo	-	-	-	+	+
Soluzione di lavoro di colesterolo	-	-	+	-	-
Soluzione di α -tocoferolo	-	-	-	-	+

Colonne:

- *dimensioni:* l=30m, Ø = 0,25 mm (spessore del film 0,25 µm),
- *fase stazionaria:* poli(dimetil) (difenil) silossano R⁽³⁾

Gas di trasporto: elio per cromatografia R,

Velocità di flusso: 1,3 ml/min.

Temperatura:

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
Colonna	0 - 1	170
	1 - 38	170→320
	38 - 40	320
Camera di iniezione		320
Rivelatore		320

Rivelazione: ionizzazione di fiamma.

Iniezione: 1 µl.

Idoneità del sistema: soluzione di riferimento (b):

- *risoluzione:* minimo 1,2 tra i picchi dovuti al colesterolo e all' α -tocoferolo.

³⁾ J e W Scientific, DB-5, 30 m, 0,25 mm, 0,25 µm è adeguata.

Calcolare il contenuto di colesterolo totale, espresso come milligrammi di colesterolo per grammo di olio, usando la seguente espressione:

$$\frac{A_1 \times m_2 \times F}{A_2 \times m_1 \times R}$$

A_1 = area del picco dovuto al colesterolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame;

A_2 = area del picco dovuto al (5 α)-colestano nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame;

m_1 = massa della sostanza da esaminare nella soluzione in esame, in grammi;

m_2 = massa del (5 α)-colestano nella soluzione madre dello standard interno, in grammi

F = 20 per gli oli con un contenuto supposto di colesterolo maggiore o eguale a 3 mg/g; 2 per gli oli con contenuto supposto di colesterolo minore di 3 mg/g

R = fattore di risposta

Calcolare il fattore di risposta R mediante la seguente espressione

$$\frac{A_3 \times m_2}{A_4 \times m_3 \times 5}$$

A_3 = area del picco dovuto al colesterolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a);

A_4 = area del picco dovuto al (5 α)-colestano nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a);

m_3 = massa del colesterolo nella soluzione madre di colesterolo, in grammi.

2.5 Saggi

2.5.	Saggi	168	2.5.20.	Esosammine nei vaccini polisaccaridici	177
2.5.1.	Indice di acidità	169	2.5.21.	Metilpentosi nei vaccini polissaccaridici	178
2.5.2.	Indice di esteri	169	2.5.22.	Acidi uronici nei vaccini polisaccaridici	178
2.5.3.	Indice di ossidrile	169	2.5.23.	Acido sialico nei vaccini polisaccaridici	178
2.5.4.	Indice di iodio	170	2.5.24.	Carbonio diossido nei gas	179
2.5.5.	Indice di perossidi	171	2.5.25.	Carbonio monossido nei gas	180
2.5.6.	Indice di saponificazione	172	2.5.26.	Azoto monossido e azoto diossido nei gas	180
2.5.7.	Sostanze insaponificabili	172	2.5.27.	Ossigeno nei gas	181
2.5.8.	Determinazione dell'azoto amminico primario aromatico	172	2.5.28.	Acqua nei gas	181
2.5.9.	Determinazione dell'azoto	172	2.5.29.	Diossido di zolfo	182
2.5.10.	Combustione in ossigeno	173	2.5.30.	Sostanze ossidanti	182
2.5.11.	Titolazioni complessometriche	173	2.5.31.	Ribosio nei vaccini polisaccaridici	182
2.5.12.	Semi-micro determinazione dell'acqua	174	2.5.32.	Microdeterminazione dell'acqua	183
2.5.13.	Alluminio nei vaccini adsorbiti	175	2.5.33.	Proteine totali	183
2.5.14.	Calcio nei vaccini adsorbiti	175	2.5.34.	Acido acetico nei peptidi sintetici	189
2.5.15.	Fenolo nei sierimmuni e nei vaccini	175	2.5.35.	Azoto protossido nei gas	189
2.5.16.	Proteine nei vaccini polisaccaridici	176	2.5.36.	Indice di anisidina	190
2.5.17.	Acidi nuclei nei vaccini polisaccaridici	176			
2.5.18.	Fosforo nei vaccini polisaccaridici	176			
2.5.19.	O-Acetile nei vaccini polisaccaridici	177			

2.5.1. INDICE DI ACIDITÀ

L'indice di acidità I_A è il numero che esprime in milligrammi la quantità di potassio idrossido necessaria per neutralizzare gli acidi liberi presenti in 1 g di una sostanza.

Disciogliere 10,00 g della sostanza in esame, o la quantità prescritta (m g), in 50 ml di una miscela di volumi uguali di *alcool R* e di *etere di petrolio R3*, neutralizzato in precedenza, salvo diversa specificazione, con *potassio idrossido 0,1 M* o *sodio idrossido 0,1 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R1* come indicatore. Se necessario, per disciogliere la sostanza in esame, riscaldare a circa 90 °C. Quando la sostanza da esaminare si è disciolta, titolare con *potassio idrossido 0,1 M* o *sodio idrossido 0,1 M* fino a che il colore rosa persiste per almeno 15 s (n ml di titolante). Quando per aiutare la dissoluzione si applica il riscaldamento, mantenere la temperatura a circa 90 °C anche durante la titolazione.

$$I_A = \frac{5,610n}{m}$$

2.5.2. INDICE DI ESTERI

L'indice di esteri I_E è il numero che esprime in milligrammi la quantità di potassio idrossido necessaria per saponificare gli esteri presenti in 1 g di una sostanza. È calcolato dall'indice di saponificazione I_S e dall'indice di acidità I_A .

$$I_E = I_S - I_A$$

2.5.3. INDICE DI OSSIDRILE

L'indice di ossidrile I_{OH} è il numero che esprime in milligrammi la quantità di potassio idrossido necessaria per neutralizzare l'acido combinato mediante acilazione in 1 g di una sostanza.

METODO A

Introdurre la quantità della sostanza da esaminare indicata nella Tabella 2.5.3.-1 (m g) in un pallone per acetilazione da 150 ml munito di un refrigerante ad aria, a meno che un'altra quantità non sia prescritta nella monografia. Aggiungere la quantità di *anidride acetica soluzione R1* indicata nella Tabella 2.5.3.-1 e collegare al refrigerante ad aria.

Tabella 2.5.3.-1.

Indice presunto I_{OH}	Quantità di sostanza da esaminare in grammi	Volume di reattivo acetilante in millilitri
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 o 1,20	5,0 o 10,0
300-350	1,0	10,0
350-700	0,75	15,0
700-950	0,5	15,0

Scaldare il pallone a b.m. per 1 h, mantenendo il livello dell'acqua circa 2,5 cm al di sopra del livello del liquido contenuto nel pallone. Togliere il pallone dal bagno e lasciare raffreddare. Aggiungere dall'estremità superiore del refrigerante, 5 ml di *acqua R*. Se la soluzione si intorbida, aggiungere una quantità sufficiente di *piridina R* per chiarificarla, annotando il volume aggiunto. Agitare il pallone e riportare nel b.m. per 10 min. Togliere il pallone e lasciare raffreddare. Lavare il refrigerante e le pareti del pallone con 5 ml di *alcool R*, precedentemente neutralizzato in presenza di *fenolftaleina soluzione R1*. Titolare con *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M*, usando come indicatore 0,2 ml di *fenolftaleina soluzione R1* (n_1 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M*). Effettuare una prova in bianco nelle stesse condizioni (n_2 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M*).

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

METODO B

Introdurre la quantità prescritta della sostanza da esaminare (m g) in una beuta da 5 ml perfettamente asciutta munita di opportuno tappo a smeriglio o in materia plastica ed aggiungere 2,0 ml di *anidride propionica reattivo R*. Chiudere la beuta e agitare dolcemente fino a dissoluzione della sostanza. Lasciare a riposo per 2 h, salvo indicazione diversa. Togliere il tappo e trasferire la beuta col suo contenuto in una beuta a collo largo da 500 ml contenente 25,0 ml di una soluzione (9 g/l) di *anilina R* in *cicloesano R* e 30 ml di *acido acetico glaciale R*. Agitare il contenuto della beuta, lasciare a riposo per 5 min, aggiungere 0,05 ml di *cristal violetto soluzione R* e titolare con *acido perclorico 0,1 M* fino ad ottenere una colorazione verde

Indice di iodio

smeraldo (n_1 ml di *acido perclorico 0,1 M*). Effettuare una prova in bianco nelle stesse condizioni (n_2 ml di *acido perclorico 0,1 M*).

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

Per considerare l'acqua presente determinarne il contenuto (y per cento) mediante il metodo semimicro (2.5.12).

L'indice di ossidrilite è quindi dato dall'equazione:

$$I_{OH} = (\text{indice di ossidrilite determinato}) - 31,1 y$$

2.5.4. INDICE DI IODIO

L'indice di iodio I_I è il numero che esprime in grammi la quantità di alogeno calcolata come iodio che può essere fissata nelle condizioni prescritte da 100 g di una sostanza.

Quando la monografia non specifica il metodo da usare, si applica il metodo A. Qualsiasi cambiamento dal metodo A al metodo B deve essere convalidato.

METODO A

Salvo diversa prescrizione, per la determinazione usare le quantità seguenti (Tabella 2.5.4.-1):

Tabella 2.5.4.-1

Valore presunto I_I	Quantità di sostanza da esaminare (grammi)
meno di 20	1,0
20 - 60	0,5 - 0,25
60 - 100	0,25 - 0,15
più di 100	0,15 - 0,10

Introdurre la quantità prescritta della sostanza da esaminare (m g) in un pallone da 250 ml, con tappo a smeriglio, precedentemente asciugato o lavato con *acido acetico glaciale R* e discioglierla in 15 ml di *cloroformio R*, salvo prescrizione diversa. Aggiungere lentamente 25,0 ml di *iodio bromuro soluzione R*. Chiudere il pallone e lasciare al buio per 30 min, salvo diversa indicazione, agitando frequentemente. Aggiungere 10 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio ioduro R* e 100 ml di *acqua R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, agitando energicamente, fino a scomparsa quasi completa della colorazione gialla. Aggiungere 5 ml di *amido soluzione R* e continuare la titolazione aggiungendo *sodio tiosolfato 0,1 M* goccia a goccia, fino

a scomparsa della colorazione (n_1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*). Effettuare una prova in bianco nelle stesse condizioni (n_2 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*).

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

METODO B

Salvo diversa prescrizione, usare per la determinazione, le seguenti quantità (Tabella 2.5.4.-2).

Tabella 2.5.4.-2

Valore presunto I_I	Massa (g) (corrispondente ad un eccesso del 150 per cento ICI)	Massa (g) (corrispondente ad un eccesso del 100 per cento ICI)	Iodio cloruro soluzione (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

La massa del campione è tale che ci sarà un eccesso di *iodio cloruro soluzione R* dal 50 per cento fino al 60 per cento della quantità aggiunta, cioè dal 100 per cento al 150 per cento della quantità assorbita.

Introdurre la quantità prescritta della sostanza in esame (m g) in un pallone da 250 ml provvisto di tappo a smeriglio e precedentemente asciugato o lavato con *acido acetico glaciale R*, e discioglierlo in 15 ml di una miscela di volumi uguali di *cicloesano R* ed *acido acetico glaciale R*, salvo diversa prescrizione. Se necessario fondere la sostanza prima della dissoluzione (punto di fusione superiore a 50 °C). Aggiungere molto lentamente il volume di *iodio cloruro soluzione R* indicato nella tabella 2.5.4.-2. Chiudere il pallone e mantenerlo al buio per 30 min, salvo prescrizione diversa, agitando di frequente. Aggiungere 10 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio ioduro R* e 100 ml di *acqua R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* agitando vigorosamente fino a quando il colore giallo è quasi scomparso. Aggiungere 5 ml di *amido soluzione R* e continuare la titolazione

aggiungendo goccia a goccia *sodio tiosolfato 0,1 M* fino a scomparsa della colorazione (n_1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*). Effettuare un saggio in bianco nelle stesse condizioni (n_2 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*).

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

2.5.5. INDICE DI PEROSSIDI

L'indice di perossidi I_p è il numero che esprime, in miliequivalenti di ossigeno attivo, la quantità di perossidi contenuta in 1000 g di una sostanza, come determinato mediante il metodo descritto di seguito.

Quando la monografia non specifica il metodo da utilizzare, deve essere applicato il metodo A. Ogni cambiamento dal metodo A al metodo B dovrebbe essere convalidato.

Metodo A

Introdurre 5,00 g (m g) della sostanza da esaminare in una beuta da 250 ml provvista di tappo a smeriglio. Aggiungere 30 ml di una miscela di 2 volumi di *cloriformio R* e 3 volumi di *acido acetico glaciale R*. Agitare fino a dissoluzione della sostanza ed aggiungere 0,5 ml di *potassio ioduro soluzione satura R*. Agitare per 1 min esatto e aggiungere quindi 30 ml di *acqua R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,01 M* aggiungendo il titolante lentamente, agitando continuamente, fino a scomparsa quasi completa della colorazione gialla. Aggiungere 5 ml di *amido soluzione R* e continuare la titolazione, agitando energicamente, fino a scomparsa della colorazione (n_1 ml di *sodio tiosolfato 0,01 M*). Effettuare una prova in bianco nelle stesse condizioni (n_2 ml di *sodio tiosolfato 0,01 M*). Il volume di *sodio tiosolfato 0,01 M* usato nella prova in bianco non deve essere superiore a 0,1 ml.

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

Metodo B

Effettuare le operazioni evitando l'esposizione alla luce attinica.

Introdurre 50 ml di una miscela di 2 volumi di *trimetilpentano R* e 3 volumi di *acido acetico glaciale R* in una beuta e richiudere. Agitare ruotando la beuta fino a che la sostanza da esaminare (m g; vedi Tabella 2.5.5. - 1) si è disciolta. Usando una adatta pipetta

tarata, aggiungere 0,5 ml di *potassio ioduro soluzione satura R* e richiudere. Lasciare a riposo la soluzione per 60 ± 1 s, agitando accuratamente la soluzione almeno tre volte e poi aggiungere 30 ml di *acqua R*.

Tabella 2.5.5.-1

Indice di perossidi atteso	Massa della sostanza da esaminare (g)
da 0 a 12	da 2,00 a 5,00
da 12 a 20	da 1,20 a 2,00
da 20 a 30	da 0,80 a 1,20
da 30 a 50	da 0,500 a 0,800
da 50 a 90	da 0,300 a 0,500

Titolare la soluzione con *sodio tiosolfato 0,01 M* (V_1 ml), aggiungendolo gradualmente con agitazione costante e vigorosa, fino alla scomparsa della colorazione gialla dello iodio. Aggiungere 0,5 ml circa di *amido soluzione R1* e continuare la titolazione, agitando costantemente vicino al punto di fine titolazione, per liberare tutto lo iodio dallo strato di solvente. Aggiungere la soluzione di *sodio tiosolfato* goccia a goccia fino alla scomparsa della colorazione blu.

In base al volume di *sodio tiosolfato 0,01 M* utilizzato, può essere necessario titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*.

AVVERTENZE: per un indice di perossidi uguale o superiore a 70 c'è un ritardo di 15-30 s nella neutralizzazione con l'indicatore di amido, a causa della tendenza del trimetilpentano a galleggiare sulla superficie del mezzo acquoso e a causa del tempo necessario per mescolare adeguatamente la miscela del solvente e del titolante acquoso, ovvero nel liberare le ultime tracce di iodio. Si raccomanda di usare *sodio tiosolfato 0,1 M* per un indice di perossidi superiore a 150. Si può aggiungere una piccola quantità (0,5-1,0 per cento m/m) di un emulsionante con un alto HLB (per esempio polisorbato 60) in modo da ritardare la separazione delle fasi e diminuire il ritardo nella liberazione dello iodio.

Effettuare una determinazione in bianco (V_0 ml). Se nella determinazione in bianco il volume di titolante supera 0,1 ml, sostituire i reattivi inquinati e ripetere la determinazione.

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

c = concentrazione del *sodio tiosolfato* soluzione in moli per litro.

2.5.6. INDICE DI SAPONIFICAZIONE

L'indice di saponificazione I_S è il numero che esprime, in milligrammi, la quantità di potassio idrossido necessaria per neutralizzare gli acidi liberi e per saponificare gli esteri contenuti in 1 g della sostanza.

Per la determinazione usare, salvo diversa prescrizione, le quantità indicate nella Tabella 2.5.6. - 1.

Tabella 2.5.6. - 1

Indice presunto I	Quantità del campione (g)
da 3 a 10	da 12 a 15
da 10 a 40	da 8 a 12
da 40 a 60	da 5 a 8
da 60 a 100	da 3 a 5
da 100 a 200	da 2,5 a 3
da 200 a 300	da 1 a 2
da 300 a 400	da 0,5 a 1

Introdurre la prescritta quantità della sostanza da esaminare (m g) in un pallone di vetro borosilicato da 250 ml, munito di refrigerante a ricadere. Aggiungere 25,0 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M* e qualche pallina di vetro. Inserire il refrigerante e scaldare a ricadere per 30 min, salvo indicazione diversa. Aggiungere 1 ml di *fenoltaleina soluzione R1* e titolare immediatamente (ancora caldo) con *acido cloridrico 0,5 M* (n_1 ml di *acido cloridrico 0,5 M*). Effettuare una prova in bianco nelle stesse condizioni (n_2 ml di *acido cloridrico 0,5 M*).

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

2.5.7. SOSTANZE INSAPONIFICABILI

Il termine "sostanze insaponificabili" si applica alle sostanze non volatili a 100-105 °C ottenute mediante estrazione con un solvente organico dalla sostanza da esaminare dopo saponificazione. Il risultato è calcolato come per cento m/m .

Usare vetreria smerigliata sgrassata

Introdurre la prescritta quantità della sostanza da esaminare (m g) in un pallone da 250 ml, munito di refrigerante a ricadere. Aggiungere 50 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 2 M* e scaldare a b.m. per 1 h, agitando frequentemente. Raffreddare a temperatura inferiore a 25 °C e trasferire il contenuto del pallone in un imbuto separatore con l'aiuto di 100 ml di *acqua R*.

Agitare il liquido con prudenza con tre quantità, da 100 ml ciascuna, di *etere esente da perossidi R*. Riunire le fasi eterie in un altro imbuto separatore contenente 40 ml di *acqua R*, agitare dolcemente per qualche minuto, lasciar separare ed eliminare la fase acquosa. Lavare la fase eterica con due quantità, da 40 ml ciascuna, di *acqua R* poi lavare successivamente con 40 ml di una soluzione (30 g/l) di *potassio idrossido R* e con 40 ml di *acqua R*; ripetere questa procedura per tre volte. Lavare la fase eterica alcune volte, ciascuna con 40 ml di *acqua R*, fino a che la fase acquosa non risulta più alcalina alla fenoltaleina. Trasferire la fase eterica in un pallone tarato lavando l'imbuto separatore con *etere esente da perossidi R*.

Rimuovere per distillazione l'etere con le precauzioni appropriate ed aggiungere al residuo 6 ml di *acetone R*. Eliminare con cautela il solvente in corrente d'aria. Essiccare a 100-105 °C fino a massa costante. Lasciare raffreddare in un essiccatore e pesare (a g).

$$\text{Sostanze insaponificabili} = \frac{100a}{m} \text{ per cento}$$

Disciogliere il residuo in 20 ml di *alcool R*, precedentemente neutralizzato in presenza di *fenoltaleina soluzione R* e titolare con *sodio idrossido soluzione alcoolica 0,1 M*. Se il volume di *sodio idrossido soluzione alcoolica 0,1 M* usato è superiore a 0,2 ml, la separazione fra le due fasi non è completa; il residuo pesato non può essere considerato come "sostanze insaponificabili". In caso di dubbio il saggio deve essere ripetuto.

2.5.8. DETERMINAZIONE DELL'AZOTO AMMINICO PRIMARIO AROMATICO

Disciogliere la quantità prescritta della sostanza da esaminare in 50 ml di *acido cloridrico diluito R* o in altro solvente indicato ed aggiungere 3 g di *potassio bromuro R*. Raffreddare in acqua ghiacciata e titolare aggiungendo lentamente e sotto costante agitazione *sodio nitrito 0,1 M*.

Determinare il punto di fine titolazione elettrometricamente o mediante l'uso dell'indicatore prescritto.

2.5.9. DETERMINAZIONE DELL'AZOTO

METODO SEMIMICRO

Introdurre in un pallone da mineralizzazione una quantità della sostanza da esaminare (m g) contenente circa 2 mg di azoto, aggiungere 4 g di una miscela polverizzata costituita da 100 g di *potassio solfato R*, 5 g di

rame(-ico) solfato *R* e 2,5 g di selenio *R* e tre palline di vetro. Portare sul fondo qualsiasi particella aderente al collo del pallone usando 5 ml di *acido solforico R* lasciandolo scorrere sulle pareti del pallone, e mescolare il contenuto ruotando il pallone. Chiudere il pallone in maniera non ermetica, per es. mediante un bulbo di vetro a gambo corto, per evitare una perdita eccessiva di acido solforico. All'inizio scaldare gradualmente, poi aumentare la temperatura fino ad ebollizione forte con condensazione dell'acido lungo il collo del pallone; si devono prendere precauzioni per evitare che la parte superiore del pallone si surriscaldi. Continuare a scaldare per 30 min salvo indicazione diversa. Raffreddare, aggiungere con precauzione 25 ml di *acqua R* per disciogliere la parte solida, raffreddare di nuovo e porre in un apparecchio da distillazione in corrente di vapore. Aggiungere 30 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* e distillare immediatamente facendo passare il vapore attraverso la miscela. Raccogliere circa 40 ml di distillato in 20,0 ml di *acido cloridrico 0,01 M* ed un volume di *acqua R* sufficiente perché l'estremità del refrigerante rimanga immersa. Verso la fine della distillazione, abbassare la beuta contenente l'acido, in modo che l'estremità del refrigerante non vi peschi più e facendo attenzione che l'acqua sulla parete esterna del refrigerante non cada nel contenuto della beuta. Titolare il distillato con *sodio idrossido 0,01 M* usando come indicatore *rosso metile indicatore misto R* (n_1 ml di *sodio idrossido 0,01 M*).

Ripetere il saggio usando circa 50 mg di *glucosio R* al posto della sostanza da esaminare (n_2 ml di *sodio idrossido 0,01 M*).

$$\text{Contenuto di azoto} = \frac{0,01401(n_2 - n_1)}{m} \text{ per cento}$$

2.5.10. COMBUSTIONE IN OSSIGENO

Salvo prescrizione diversa, la beuta da combustione è una beuta di vetro borosilicato della capacità di almeno 500 ml, con un tappo a smeriglio provvisto di un porta-campione, per esempio in platino o in platino-iridio.

Polverizzare finemente la sostanza in esame e porre la quantità prescritta di campione al centro di un pezzo di carta da filtro avente le dimensioni di circa 30 mm × 40 mm e fornito di una linguetta di circa 10 mm di larghezza per 30 mm di lunghezza. Se è prescritta una carta impregnata con litio carbonato, bagnare il centro della carta con una soluzione satura di *litio carbonato R* ed essiccare in stufa prima dell'uso. Avvolgere la sostanza da esaminare nella carta e met-

terla sul portacampione. Introdurre nella beuta *acqua R* o la soluzione prescritta che deve assorbire i prodotti della combustione, sostituire l'aria con l'ossigeno per mezzo di un tubo che arriva fino al livello del liquido. Bagnare il collo della beuta con *acqua R* e chiudere. Accendere la linguetta di carta con un mezzo appropriato osservando le precauzioni necessarie, e mantenere fermamente chiusa la beuta durante la combustione. Agitare energicamente la beuta fino a dissoluzione completa dei prodotti della combustione, raffreddare e dopo circa 5 min, salvo indicazione diversa, aprirla con cautela. Lavare con *acqua R* le parti smerigliate, le pareti della beuta e il portacampione. Riunire i prodotti della combustione e le acque di lavaggio e procedere come descritto nella monografia.

2.5.11. TITOLAZIONI COMPLESSOMETRICHE

ALLUMINIO

Introdurre 20,0 ml della soluzione indicata in una beuta da 500 ml, aggiungere 25,0 ml di *sodio edetato 0,1 M* e 10 ml, di una miscela di volumi uguali di una soluzione (155 g/l) di *ammonio acetato R* e di *acido acetico diluito R*. Bollire per 2 min e raffreddare. Aggiungere 50 ml di *etanolo R* e 3 ml di una soluzione (0,25 g/l) di *ditizone R* in *etanolo R* preparata di recente. Titolare l'eccesso di sodio edetato con *zinco solfato 0,1 M* fino al viraggio dal blu-verdastro al violetto-rossastro.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 2,698 mg di Al.

BISMUTO

Introdurre la soluzione prescritta, preparata con *acido nitrico R*, in una beuta da 500 ml. Diluire a 250 ml con *acqua R* e, salvo indicazione diversa, aggiungere, goccia a goccia e sotto agitazione, *ammoniaca concentrata R* fino a che la miscela diventa opalescente. Aggiungere 0,5 ml di *acido nitrico R*. Scaldare a circa 70 °C fino a scomparsa completa dell'opalescenza. Aggiungere circa 50 mg di *arancio xilenolo miscela composta R* e titolare con *sodio edetato 0,1 M* fino al viraggio dal violetto-rosa al giallo.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 20,90 mg di Bi.

CALCIO

Introdurre la soluzione prescritta in una beuta da 500 ml e diluire a 300 ml con *acqua R*. Aggiungere 6,0 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* e circa 15 mg di *calcone-acido carbossilico miscela composta R*. Titolare con *sodio edetato 0,1 M* fino al viraggio dal violetto al blu netto.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 4,008 mg di Ca.

PIOMBO

Introdurre la soluzione prescritta in una beuta da 500 ml e diluire a 200 ml con *acqua R*. Aggiungere circa 50 mg di *arancio xilenolo miscela composta R* e *esametilentetrammina R* fino a che la soluzione diventa rosa-violetto. Titolare con *sodio edetato 0,1 M* fino al viraggio dal rosa-violetto al giallo.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 20,72 mg di Pb.

MAGNESIO

Introdurre la soluzione prescritta in una beuta da 500 ml e diluire a 300 ml con *acqua R*. Aggiungere 10 ml di *tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0 R* e 50 mg circa di *nero mordente 11 miscela com-posta R*. Riscaldare a circa 40 °C e titolare a questa temperatura con *sodio edetato 0,1 M* fino al viraggio dal violetto al blu netto.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 2,431 mg di Mg.

ZINCO

Introdurre la soluzione prescritta in una beuta da 500 ml e diluire a 200 ml con *acqua R*. Aggiungere circa 50 mg di *xilenolo arancio miscela composta R* ed *esametilentetrammina R* fino a che la soluzione diventa rosa-violetta. Aggiungere 2 g di *esametilentetrammina R* in eccesso. Titolare con *sodio edetato 0,1 M* fino al viraggio dell'indicatore dal rosa-violetto al giallo.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 6,54 mg di Zn.

2.5.12. SEMI-MICRO DETERMINAZIONE DELL'ACQUA

La semi-micro determinazione dell'acqua è basata sulla reazione quantitativa dell'acqua con un reattivo contenente diossido di zolfo e iodio in un adeguato mezzo anidro in presenza di una base avente una sufficiente capacità tamponante.

Apparecchiatura

L'apparecchiatura è costituita da un recipiente per titolazione munito di:

- due identici elettrodi di platino;
- tubi a tenuta per l'immissione del solvente e del titolante;
- un tubo per l'immissione dell'aria attraverso un essiccante;
- un tubo per l'immissione della sostanza da esaminare munito di un tappo o, per i liquidi, di un setto.

Possono essere installati dei sistemi per l'immissione di azoto secco e per l'aspirazione dei solventi.

La titolazione viene effettuata in base alle istruzioni allegate, dal fornitore, allo strumento. Prendere le opportune precauzioni durante la titolazione in modo da evitare l'esposizione dei reattivi e dei solventi alla umidità atmosferica. Il punto di fine titolazione è determinato mediante l'uso di due identici elettrodi indicatori connessi ad una sorgente elettrica che mantiene tra gli elettrodi o una corrente costante o un voltaggio costante. Quando si usa la titolazione diretta (metodo A), l'aggiunta del titolante causa o un decremento del voltaggio quando si mantiene la corrente costante o un incremento nella corrente quando si mantiene il voltaggio costante, fino al raggiungimento del punto di fine titolazione. Sono correntemente usati strumenti muniti di un sistema automatico per la determinazione del punto di fine titolazione.

Titolo del reattivo. Introdurre *metanolo R*, se necessario essiccato, oppure il solvente raccomandato dal fornitore del reattivo nel recipiente di titolazione. In base all'apparecchiatura utilizzata eliminare l'acqua residua dalla cella di misura oppure effettuare una pre-titolazione. Introdurre una adeguata quantità di acqua in una forma appropriata (*acqua R* o un materiale di riferimento certificato) ed effettuare la titolazione, agitando per il tempo necessario. L'equivalente in acqua del reattivo titolante non è inferiore all'80 per cento di quanto indicato dal fornitore. Stabilire l'equivalente in acqua del reattivo titolante prima del suo primo uso e successivamente ad intervalli appropriati.

Salvo indicazioni contrarie, utilizzare il Metodo A.

Metodo A. Introdurre nel recipiente di titolazione *metanolo R* o il solvente indicato nella monografia o raccomandato dal fornitore del reattivo titolante. In base alla apparecchiatura utilizzata eliminare l'acqua residua dalla cella di misura oppure effettuare una pre-titolazione. Introdurre rapidamente la sostanza in esame ed effettuare la titolazione agitando per il necessario tempo di estrazione.

Metodo B. Introdurre nel recipiente di titolazione *metanolo R* o il solvente indicato nella monografia o raccomandato dal fornitore del reattivo titolante. In base alla apparecchiatura utilizzata eliminare l'acqua residua dalla cella di misura oppure effettuare una pre-titolazione.

Introdurre rapidamente la sostanza da esaminare convenientemente polverizzata. Aggiungere un volume di titolante, esattamente misurato, sufficiente per avere un eccesso di circa 1 ml o il volume prescritto. Lasciare a riposo al riparo dalla luce per 1 min o per il tempo

prescritto, agitando di tanto in tanto. Titolare l'eccesso di reattivo usando *metanolo R* o il prescritto solvente contenente una quantità di acqua esattamente nota.

Conformità. Per ciascuna sostanza esaminata deve essere verificata l'accuratezza della determinazione fatta con il titolante scelto. La procedura seguente, data come esempio, è adeguata per campioni contenenti 2,5-25 mg di acqua.

Il contenuto in acqua della sostanza in esame viene determinato usando il sistema reattivo/solvente scelto. Si procede aggiungendo in modo sequenziale (almeno 5 aggiunte) quantità note di *acqua R* in una forma appropriata e determinando il contenuto cumulativo di acqua dopo ciascuna aggiunta. Calcolare la percentuale di recupero (?) (r) per ciascun punto per mezzo della seguente espressione

$$r = 100 \frac{W_2}{W_1}$$

W_1 = quantità di acqua aggiunta, in milligrammi;

W_2 = quantità di acqua trovata, in milligrammi.

Calcolare la linea di regressione dell'acqua cumulativa determinata in rapporto all'acqua aggiunta.

Calcolare la pendenza (b), l'intercetta con l'asse y (a) e l'intercetta (d) tra la linea di calibrazione estrapolata e l'asse x delle ascisse.

Calcolare la percentuale di recupero medio \bar{r} . Calcolare le percentuali d'errore (e_1 e e_2) mediante le espressioni seguenti

$$e_1 = 100 \frac{a - M}{M}$$

$$e_2 = 100 \frac{|d| - M}{M}$$

a = intersezione con l'asse y , in milligrammi di acqua;

d = intersezione con l'asse x , in milligrammi di acqua;

M = contenuto d'acqua della sostanza, in milligrammi di acqua

Il sistema reattivo/solvente è considerato accettabile se:

- $|e_1|$ ed $|e_2|$ non sono maggiori del 2,5 per cento;
- b è compreso tra 0,975 e 1,025 (deviazione del 2,5 per cento);
- \bar{r} si colloca tra il 97,5 per cento ed il 102,5 per cento.

2.5.13. ALLUMINIO NEI VACCINI ADSORBITI

Omogenizzare la preparazione in esame e prelevarne una quantità appropriata, che si presume contenga 5-6 mg di alluminio, introducendola in un pallone da combustione da 50 ml. Aggiungere 1 ml di *acido solforico R*, 0,1 ml di *acido nitrico R* e qualche pallina di vetro. Scaldare la soluzione fino allo svolgersi di densi fumi bianchi. Se a questo stadio si verifica carbonizzazione, aggiungere ancora qualche goccia di *acido nitrico R* e mantenere l'ebollizione fino a decolorazione. Lasciare raffreddare per qualche minuto, aggiungere con precauzione 10 ml di *acqua R* e far bollire fino ad ottenere una soluzione limpida. Lasciare raffreddare, aggiungere 0,05 ml di *metilarancio soluzione R* e neutralizzare con *sodio idrossido soluzione concentrata R* (da 6,5 a 7 ml). Se si forma un precipitato, aggiungere, goccia a goccia sufficiente *acido solforico diluito R* per discioglierlo. Trasferire la soluzione in una beuta da 250 ml e lavare il pallone da combustione con 25 ml di *acqua R*. Aggiungere 25,0 ml di *sodio edetato 0,02 M*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,4 R* e qualche pallina di vetro e far bollire moderatamente per 3 min. Aggiungere 0,1 ml di *piridilazonaftolo soluzione R* e titolare la soluzione calda con *rame solfato 0,02 M* fino al viraggio al bruno-porpora. Effettuare contemporaneamente una titolazione in bianco senza il vaccino. 1 ml di *sodio edetato 0,02 M* equivale a 0,5396 mg di Al.

2.5.14. CALCIO NEI VACCINI ADSORBITI

Tutte le soluzioni usate per questo saggio devono essere preparate con *acqua distillata R*.

Determinare il calcio mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*). Omogenizzare la preparazione in esame. Aggiungere da 1,0 ml a 0,2 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 3,0 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza a 620 nm.

2.5.15. FENOLO NEI SIERIMMUNI E NEI VACCINI

Omogenizzare la preparazione in esame. Diluire un volume appropriato con *acqua R* in modo da ottenere una soluzione che contenga, presumibilmente, 15 μg di fenolo per ml. Preparare una serie di soluzioni di riferimento con *fenolo R* contenenti, rispettivamente, 5 μg , 10 μg , 15 μg , 20 μg e 30 μg di fenolo per millilitro. Aggiungere a 5 ml della soluzione in esame e a 5 ml di ciascuna soluzione di riferimento, rispettivamente, 5 ml di *tampone soluzione a pH 9,0 R*, 5 ml di *amminopirazolone soluzione R* e 5 ml di *potassio ferricianuro*

soluzione R. Lasciare a riposo per 10 min e misurare l'intensità della colorazione a 546 nm. Costruire la curva di taratura e calcolare il contenuto in fenolo della preparazione in esame.

2.5.16. PROTEINE NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Utilizzare un pallone tarato di volume appropriato per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco. Trasferire quantitativamente il contenuto di un contenitore nel pallone e portare a volume con *acqua R*. Trasferire 1 ml della soluzione in una provetta di vetro e aggiungere 0,15 ml di una soluzione (400 g/l) di *acido tricloroacetico R*. Agitare, lasciare a riposo per 15 min, centrifugare per 10 min a 5000 giri/min e eliminare il soprannatante. Aggiungere 0,4 ml di *sodio idrossido 0,1 M* al residuo della centrifugazione.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 0,100 g di *albumina bovina R* in 100 ml di *sodio idrossido 0,1 M* (soluzione madre contenente 1 g di proteina per litro). Diluire 1 ml della soluzione madre a 20 ml con *sodio idrossido 0,1 M* (diluizione di lavoro (a), contenente 50 mg di proteina per litro). Diluire 1 ml della soluzione madre a 4 ml con *sodio idrossido 0,1 M* (diluizione di lavoro (b), contenente 250 mg di proteina per litro). Trasferire in 6 provette di vetro 0,10 ml, 0,20 ml e 0,40 ml della diluizione di lavoro (a) e 0,15 ml, 0,20 ml e 0,25 ml della diluizione di lavoro (b). Portare il contenuto di ciascuna provetta al volume di 0,40 ml con *sodio idrossido 0,1 M*.

Preparare una prova in bianco usando 0,40 ml di *sodio idrossido 0,1 M*.

Aggiungere 2 ml di *cupri-tartarica soluzione R3* a ciascuna provetta, agitare e lasciare a riposo per 10 min. Aggiungere a ciascuna provetta 0,2 ml di una miscela di volumi uguali di *fosfomolibdotungstico reattivo R* ed *acqua R*, preparata immediatamente prima dell'uso. Chiudere le provette, mescolare per capovolgimento e lasciare a riposo al buio per 30 min. Il colore blu deve mantenersi per 60 min. Se necessario, centrifugare per ottenere delle soluzioni limpide.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione a 760 nm utilizzando il bianco come liquido di compensazione. Costruire la curva di taratura con le assorbanze delle sei soluzioni di riferimento e con i corrispondenti contenuti in proteina e leggere dalla curva il contenuto in proteina presente nella soluzione in esame.

2.5.17. ACIDI NUCLEICI NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Utilizzare un pallone tarato di volume appropriato per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco. Trasferire quantitativamente il contenuto di un recipiente del vaccino nel pallone e portare a volume con *acqua R*. Diluire, se necessario, la soluzione in esame per ottenere un valore di assorbanza adatto allo strumento utilizzato. Misurare l'assorbanza (2.2.25) a 260 nm utilizzando *acqua R* come liquido di compensazione.

L'assorbanza di una soluzione (1 g/l) di acido nucleico, misurata a 260 nm, è 20.

2.5.18. FOSFORO NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Utilizzare un pallone tarato di volume appropriato per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco. Trasferire quantitativamente il contenuto di un recipiente del vaccino nel pallone e portare a volume con *acqua R*. Diluire la soluzione in esame in modo che il volume usato nel saggio (1 ml) contenga circa 6 µg di fosforo. Trasferire 1,0 ml della soluzione in una provetta da calcinazione da 10 ml.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 0,2194 g di *potassio fosfato monobasico R* in 500 ml di *acqua R* per ottenere una soluzione contenente l'equivalente di 0,1 mg di fosforo per millilitro. Diluire 5,0 ml della soluzione a 100,0 ml con *acqua R*. Trasferire in tre provette da calcinazione 0,5 ml, 1,0 ml e 2,0 ml della soluzione.

Preparare una soluzione come bianco con 2,0 ml di *acqua R* in una provetta da calcinazione.

Aggiungere 0,2 ml di *acido solforico R* a tutte le provette e scaldare in un bagno di olio a 120 °C per 1 h e poi a 160 °C fino a comparsa di fumi bianchi (circa 1 h). Aggiungere 0,1 ml di *acido perclorico R* e scaldare a 160 °C fino a che la soluzione si decolora (circa 90 min). Raffreddare ed aggiungere a ciascuna provetta 4 ml di *acqua R* e 4 ml di *ammonio molibdato reattivo R*. Scaldare a b.m. a 37 °C per 90 min e raffreddare. Portare al volume di 10,0 ml con *acqua R*. Il colore blu deve mantenersi per diverse ore. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione a 820 nm utilizzando il bianco come liquido di compensazione. Costruire la curva di taratura con le assorbanze delle tre soluzioni di riferimento in funzione della quantità di fosforo presente nelle soluzioni e leggere dalla curva la quantità di fosforo nella soluzione in esame.

2.5.19. O-ACETILE NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Utilizzare un pallone tarato di volume idoneo per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco. Trasferire quantitativamente il contenuto di un recipiente del vaccino nel pallone e portare a volume con *acqua R*. Diluire la soluzione in modo che i volumi usati nel saggio contengano dai 30 µg ai 600 µg di acetilcolina cloruro (*O*-acetile). Introdurre 0,3 ml, 0,5 ml e 1,0 ml in doppio in sei provette (tre soluzioni di reazione e tre soluzioni di correzione).

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 0,150 g di *acetilcolina cloruro R* in 10 ml di *acqua R* (soluzione madre contenente 15 g di acetilcolina cloruro per litro). Immediatamente prima dell'uso, diluire 1 ml della soluzione madre a 50 ml con *acqua R* (diluizione di lavoro (a), contenente 300 µg di acetilcolina cloruro per millilitro). Immediatamente prima dell'uso diluire 1 ml della soluzione madre a 25 ml con *acqua R* (diluizione di lavoro (b), contenente 600 µg di acetilcolina cloruro per millilitro). Introdurre 0,1 ml e 0,4 ml della diluizione di lavoro (a) in doppio (soluzioni di reazione e di correzione) in quattro provette e 0,6 e 1,0 ml della diluizione di lavoro (b) in doppio (soluzioni di reazione e di correzione) in altre quattro provette.

Preparare una prova in bianco usando 1 ml di *acqua R*.

Portare il volume di ciascuna provetta a 1 ml con *acqua R*. A ciascuna provetta di correzione ed al bianco aggiungere 1,0 ml di *acido cloridrico 4 M*. A ciascuna provetta aggiungere 2,0 ml di *idrossilamina soluzione alcalina R*. Lasciare procedere la reazione per 2 min esatti ed aggiungere a ciascuna provetta 1,0 ml di *acido cloridrico 4 M*. Aggiungere a ciascuna provetta 1,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R* in *acido cloridrico 0,1 M*, chiudere le provette e agitare vigorosamente per eliminare le bolle. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione a 540 nm utilizzando il bianco come liquido di compensazione. Per ciascuna soluzione di reazione sottrarre l'assorbanza della corrispondente soluzione di correzione. Costruire una curva di taratura con le assorbanze corrette per le quattro soluzioni di riferimento e il corrispondente contenuto in acetilcolina cloruro e leggere dalla curva il contenuto in acetilcolina cloruro nella soluzione in esame per ciascun volume esaminato. Calcolare la media dei tre valori.

1 mole di acetilcolina cloruro (181,7 g) equivale a 1 mole di *O*-acetile (43,05 g).

2.5.20. ESOSAMMINE NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Utilizzare un pallone tarato di volume idoneo per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco. Trasferire quantitativamente il contenuto di un recipiente del vaccino nel pallone e portare a volume con *acqua R*. Diluire la soluzione in modo che i volumi usati nel saggio contengano dai 125 µg ai 500 µg di glucosammina (esosammina). Trasferire 1,0 ml della soluzione diluita in una provetta graduata.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 60 mg di *glucosammina cloridrato R* in 100 ml di *acqua R* (soluzione di riferimento contenente 0,500 g di glucosammina per litro). Introdurre rispettivamente 0,25 ml, 0,50 ml, 0,75 ml e 1,0 ml di questa soluzione in quattro provette graduate.

Preparare una prova in bianco usando 1 ml di *acqua R*.

Portare il volume di ciascuna provetta ad 1 ml con *acqua R* ed aggiungere 1 ml di una soluzione (292g/l) di *acido cloridrico* in ciascuna provetta. Chiudere le provette e scaldare a b.m. per 1 h. Raffreddare a t.a. Aggiungere a ciascuna provetta 0,05 ml di una soluzione (5 g/l) di *timolftaleina R* in *alcool R*. Aggiungere una soluzione (200g/l) di *sodio idrossido R* fino alla comparsa del colore blu e poi *acido cloridrico 1 M* fino a che la soluzione diventa incolore. Portare il volume di ciascuna provetta a 10 ml con *acqua R* (idrolizzati neutralizzati). Trasferire in una seconda serie di provette graduate da 10 ml, 1 ml di ciascuno degli idrolizzati neutralizzati. Aggiungere a ciascuna provetta 1 ml di *acetilacetone reattivo* (una miscela, preparata immediatamente prima dell'uso, di 1 volume di *acetilacetone R* e 50 volumi di una soluzione (53 g/l) di *sodio carbonato anidro R*). Chiudere le provette e scaldare a b.m. a 90 °C per 45 min e poi raffreddare a t.a. Aggiungere a ciascuna provetta 2,5 ml di *alcool R* e 1,0 ml di una soluzione di *dimetilamminobenzaldeide* (disciogliere, immediatamente prima dell'uso, 0,8 g di *dimetilamminobenzaldeide R* in 15 ml di *alcool R* ed aggiungere 15 ml di *acido cloridrico R*) e portare il volume di ciascuna soluzione a 10 ml con *alcool R*. Chiudere le provette, agitare per capovolgimento e lasciare a riposo al buio per 90 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione a 530 nm utilizzando il bianco come liquido di compensazione. Costruire la curva di taratura con le assorbanze delle quattro soluzioni di riferimento e il corrispondente contenuto di esosammina e leggere dalla curva la quantità di esosammina presente nella soluzione in esame.

2.5.21. METILPENTOSI NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Utilizzare un pallone tarato di volume idoneo per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco. Trasferire quantitativamente il contenuto di un recipiente del vaccino nel pallone e portare a volume con *acqua R*. Diluire la soluzione in modo che i volumi usati nel saggio contengano dai 2 µg ai 20 µg di ramnosio (metilpentosi). Introdurre in tre provette 0,25 ml, 0,50 ml e 1 ml della soluzione diluita.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 0,100 g di *ramnosio R* in 100 ml di *acqua R* (soluzione madre contenente 1 g di metilpentosio per litro). Immediatamente prima dell'uso, diluire 1 ml della soluzione madre a 50 ml con *acqua R* (diluizione di lavoro contenente 20 mg di metilpentosio per litro). Introdurre 0,10 ml, 0,25 ml, 0,50 ml, 0,75 ml e 1,0 ml della diluizione di lavoro in cinque provette.

Preparare un bianco usando 1 ml di *acqua R*.

Portare il volume di ciascuna provetta a 1 ml con *acqua R*. Porre le provette in acqua ghiacciata ed aggiungere a ciascuna provetta, goccia a goccia e agitando continuamente, 4,5 ml di una miscela raffreddata di 1 volume di *acqua R* e 6 volumi di *acido solforico R*.

Scaldare le provette a t.a. poi porle a b.m. per alcuni minuti. Raffreddare a t.a. Aggiungere a ciascuna provetta 0,10 ml di una soluzione (30 g/l) di *cisteina cloridrato R*, preparata immediatamente prima dell'uso. Agitare e lasciare a riposo per 2 h. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione a 396 nm e a 430 nm utilizzando il bianco come liquido di compensazione. Calcolare per ciascuna soluzione la differenza tra l'assorbanza misurata a 396 nm e quella misurata a 430 nm. Costruire la curva di taratura con la differenza delle assorbanze delle cinque soluzioni di riferimento e con i corrispondenti contenuti di metilpentosio e leggere dalla curva, per ciascun volume esaminato, la quantità di metilpentosio presente nella soluzione in esame. Calcolare la media dei tre valori.

2.5.22. ACIDI URONICI NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Utilizzare un pallone tarato di volume idoneo per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco. Trasferire quantitativamente nel pallone il conte-

nuto di un contenitore del vaccino e portare a volume con *acqua R*. Diluire la soluzione in modo che i volumi usati nel saggio contengano dai 4 µg ai 40 µg di acido glucuronico (acidi uronici). Introdurre 0,25 ml, 0,50 ml e 1,0 ml della soluzione diluita in tre provette.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 50 mg di *sodio glucuronato R* in 100 ml di *acqua R* (soluzione madre contenente 0,4 g di acido glucuronico per litro). Immediatamente prima dell'uso, diluire 5 ml della soluzione madre a 50 ml con *acqua R* (diluizione di lavoro contenente 40 mg di acido glucuronico per litro). Introdurre 0,10 ml, 0,25 ml, 0,50 ml, 0,75 ml e 1,0 ml della diluizione di lavoro in cinque provette.

Preparare un bianco usando 1 ml di *acqua R*.

Portare il volume di ciascuna provetta a 1 ml con *acqua R*. Porre le provette in acqua ghiacciata ed aggiungere a ciascuna di esse, goccia a goccia e agitando continuamente, 5,0 ml di *soluzione borica R*. Chiudere le provette e porle a b.m. per 15 min. Raffreddare a t.a. Aggiungere a ciascuna provetta 0,20 ml di una soluzione (1,25 g/l) di *carbazolo R* in *etanolo R*. Chiudere le provette, porle a b.m. per 15 min e raffreddare a t.a. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione a 530 nm utilizzando il bianco come liquido di compensazione. Costruire la curva di taratura con le assorbanze delle cinque soluzioni di riferimento e con i corrispondenti contenuti di acido glucuronico e leggere dalla curva, per ciascun volume esaminato, la quantità di acido glucuronico presente nella soluzione esaminata. Calcolare la media dei tre valori.

2.5.23. ACIDO SIALICO NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Trasferire quantitativamente il contenuto di uno o più recipienti del vaccino in esame in un pallone tarato di volume idoneo in modo da avere una concentrazione di circa 250 µg per millilitro di polisaccaride e portare a volume con *acqua R*. Usando una siringa, trasferire 4,0 ml di questa soluzione in una cella per ultrafiltrazione da 10 ml idonea al passaggio di molecole di massa molecolare relativa inferiore a 50000. Lavare la siringa due volte con *acqua R* e trasferire le acque di lavaggio nella cella per ultrafiltrazione. Effettuare l'ultrafiltrazione agitando in maniera costante sotto *azoto R* e ad una pressione di circa 150 kPa. Riempire la cella con *acqua R* ogni volta che il volume del liquido scende ad 1 ml e continuare fino a quando sono filtrati 200 ml e il volume rimanente

nella cella è di circa 2 ml. Usando una siringa, trasferire il volume residuo di liquido in un pallone tarato da 10 ml. Lavare la cella con tre porzioni, ciascuna di 2 ml, di *acqua R*, trasferire le acque di lavaggio nel pallone tarato e diluire a 10,0 ml con *acqua R* (soluzione in esame). In ciascuna di due provette introdurre 2,0 ml della soluzione in esame.

Soluzioni di riferimento. Usare le soluzioni di riferimento prescritte nella monografia.

Preparare due serie di tre provette. Introdurre nelle provette di ciascuna serie 0,5 ml, 1,0 ml e 1,5 ml, rispettivamente, della soluzione di riferimento corrispondente al tipo di vaccino in esame e aggiustare il volume in ciascuna provetta a 2,0 ml con *acqua R*.

Preparare due soluzioni in bianco usando 2,0 ml di *acqua R* in ciascuna provetta.

A tutte le provette aggiungere 5,0 ml di *resorcinolo reattivo R*. Scaldare a 105 °C per 15 min, raffreddare in acqua fredda e trasferire le provette in un bagno di ghiaccio. A ciascuna provetta aggiungere 5 ml di *alcol isoamilico R* e mescolare accuratamente. Disporre le provette in un bagno di ghiaccio per 15 min. Centrifugare e mantenere le provette nel bagno di ghiaccio fino all'esame mediante spettrofotometria di assorbimento. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione soprannatante a 580 nm e a 450 nm usando *alcol isoamilico R* come liquido di compensazione. Per ciascuna lunghezza d'onda, calcolare l'assorbanza come media dei valori ottenuti con due soluzioni identiche. Sottrarre il valore medio del bianco dai valori medi ottenuti per le altre soluzioni.

Riportare su un grafico la differenza tra l'assorbanza a 580 nm e quella a 450 nm della soluzione di riferimento come funzione del contenuto di acido *N*-acetilneuramminico e leggere dal grafico la quantità di acido *N*-acetilneuramminico (acido sialico) nella soluzione in esame.

2.5.24. CARBONIO DIOSSIDO NEI GAS

Il diossido di carbonio nei gas si determina usando un analizzatore ad infrarosso (vedi Figura 2.5.24-1).

L'analizzatore ad infrarosso comprende un sistema generatore di due identici fasci di radiazione infrarossa, costituito da spirali scaldate elettricamente al basso rosso e munito di riflettori. Un raggio attraversa la cella campione e l'altro raggio attraversa la cella di riferimento. La cella campione riceve un flusso del gas da analizzare e la cella di riferimento contiene *azoto RI*. Le due camere del rivelatore sono riempite di *anidride carbonica RI* e la radiazione è automaticamente ricevuta selettivamente. L'assorbimento di questa radiazione produce calore ed una espansione diversa del gas nelle due camere, a causa dell'assorbimento di una parte della radiazione emessa dal diossido di carbonio contenuto nel gas in esame. La differenza di pressione tra le due camere del rivelatore provoca una distensione del diaframma di metallo che le separa. Questo diaframma fa parte di un condensatore elettrico, la cui capacità varia con la differenza di pressione che, a sua volta, dipende dal contenuto in diossido di carbonio nel gas in esame. Poiché i raggi infrarossi sono interrotti periodicamente da un otturatore rotante, il segnale elettrico è modulato nella frequenza.

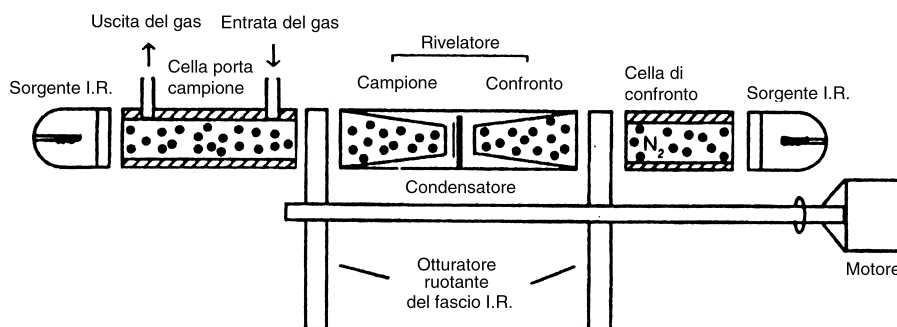


Figura 2.5.24.-1. - Analizzatore ad infrarosso

2.5.25. CARBONIO MONOSSIDO NEI GAS

METODO I

Apparecchiatura. L'apparecchio (vedi Figura 2.5.25.-1) è costituito dalle seguenti parti collegate in serie:

- un tubo a U (U_1) contenente *gel di silice anidro R* impregnato con *cromo triossido R*,
- una bottiglia di lavaggio (F_1) contenente 100 ml di una soluzione (400 g/l) di *potassio idrossido R*,
- un tubo a U (U_2) contenente pasticche di *potassio idrossido R*,
- un tubo a U (U_3) contenente *anidride fosforica R* dispersa su pomice fusa preventivamente granulata,
- un tubo a U (U_4) contenente 30 g di *anidride iodica R* ricristallizzata in granuli, preventivamente essiccata a 200 °C e mantenuta alla temperatura di 120 °C (T) durante il saggio. L'anidride iodica è impaccata nel tubo in colonne di 1 cm separate da colonne di 1 cm di lana di vetro per dare un percorso effettivo di 5 cm,
- un tubo di reazione (F_2) contenente 2,0 ml di *potassio ioduro soluzione R* e 0,15 ml di *amido soluzione R*.

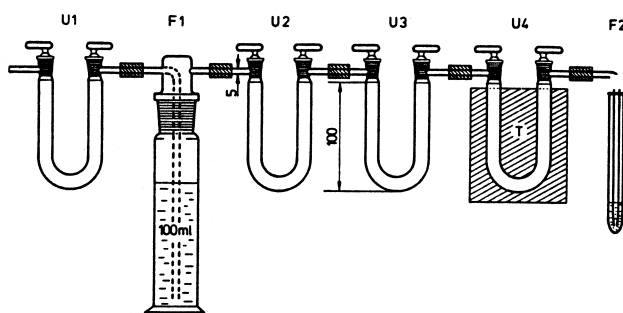


Figura 2.5.25.-1. - *Apparecchio per la determinazione del monossido di carbonio nei gas (dimensioni in millimetri)*

Metodo. Spurgare l'apparecchio con 5,0 litri di *argon R* e, se necessario, eliminare il colore blu della soluzione di ioduro aggiungendo la minima quantità necessaria di *sodio tiosolfato 0,002 M* preparato di recente. Continuare il flusso finché non sono necessari più di 0,045 ml di *sodio tiosolfato 0,002 M* dopo il passaggio di 5,0 litri di *argon R*. Far passare il gas da esaminare dal cilindro nell'apparecchio, usando il volume e la velocità di flusso indicati. Far passare le ultime tracce di iodio sviluppato nel tubo di reazione facendo passare attraverso l'apparecchio 1,0 litro di *argon R*. Titolare lo iodio liberato con *sodio tiosolfato 0,002 M*. Effettuare una prova in bianco usando il volume prescritto di *argon R*. La differenza tra i volumi di *sodio tiosolfato 0,002 M* utilizzati nelle titolazioni non è superiore al limite prescritto.

METODO II

Il monossido di carbonio nei gas si determina usando un analizzatore ad infrarosso (vedi Figura 2.5.24.-1). L'analizzatore comprende un sistema generatore di due raggi infrarossi identici, costituito da spirali scaldate elettricamente al basso rosso e munito di riflettori. Un raggio attraversa la cella campione e l'altro raggio attraversa la cella di riferimento. La cella campione riceve un flusso del gas da analizzare e la cella di riferimento contiene *azoto R1*. Le due camere del rivelatore sono riempite di *carbonio monossido R* e la radiazione è automaticamente ricevuta selettivamente. L'assorbimento di questa radiazione produce calore ed una espansione diversa del gas nelle due camere, a causa dell'assorbimento di una parte della radiazione emessa dal monossido di carbonio contenuto nel gas in esame. La differenza di pressione tra le due camere del rivelatore provoca una distensione del diaframma di metallo che le separa. Questo diaframma fa parte di un condensatore, la cui capacità varia con la differenza di pressione che a sua volta dipende dal contenuto in monossido di carbonio presente nel gas in esame. Poiché i raggi infrarossi sono interrotti periodicamente da un otturatore rotante, il segnale elettrico è modulato nella frequenza.

2.5.26. AZOTO MONOSSIDO E AZOTO DIOSSIDO NEI GAS

Il monossido di azoto e il diossido di azoto nei gas si determinano usando un analizzatore a chemiluminescenza (vedi Figura 2.5.26.-1).

L'apparecchio è costituito da:

- un dispositivo di filtrazione, che verifica e controlla il flusso del gas in esame,
- un convertitore che riduce il diossido di azoto a monossido di azoto, per determinare il contenuto complessivo di monossido di azoto e diossido di azoto. L'efficienza del convertitore deve essere verificata prima dell'uso;
- un generatore di ozono ad una velocità di flusso controllata; l'ozono è prodotto da scariche elettriche ad alto voltaggio tra due elettrodi; il generatore di ozono è alimentato con ossigeno puro o con aria ambiente deidratata e la concentrazione di ozono ottenuta deve eccedere fortemente il contenuto massimo di ossidi di azoto rivelabili,
- una camera di reazione nella quale il monossido di azoto e l'ozono possono reagire,
- un sistema di rivelazione della radiazione luminosa emessa alla lunghezza d'onda di 1,2 μm , costituito da un filtro ottico selettivo e da un tubo fotomoltiplicatore.

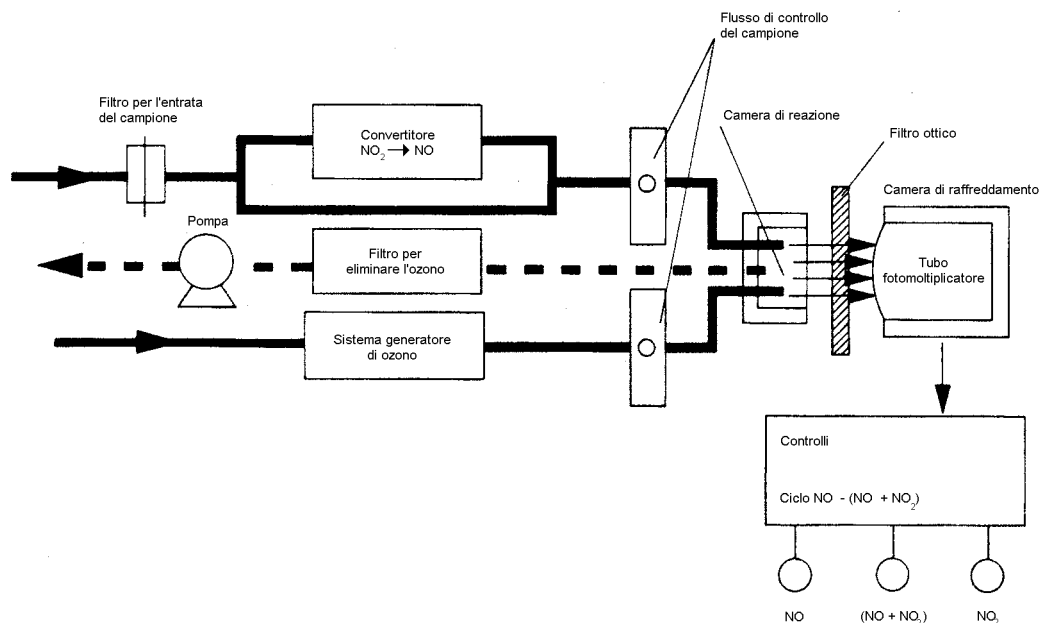


Figura 2.5.26.1 - Analizzatore a chemiluminescenza

2.5.27. OSSIGENO NEI GAS

L'ossigeno nei gas si determina usando un analizzatore paramagnetico.

Il principio del metodo si basa sull'elevata sensibilità paramagnetica della molecola di ossigeno. L'ossigeno esercita una forte interazione con i campi magnetici, che è misurata elettronicamente, amplificata e convertita per leggere la concentrazione in ossigeno. La misura della concentrazione in ossigeno dipende dalla pressione e dalla temperatura e l'analizzatore deve essere calibrato immediatamente prima dell'uso se non è automaticamente compensato per le variazioni di temperatura e di pressione. Poiché l'effetto paramagnetico dell'ossigeno è lineare, lo strumento deve avere un idoneo intervallo che permette letture dello 0,1 per cento o migliori.

Calibrazione dello strumento. Procedere nel modo seguente:

- regolare lo zero facendo passare attraverso lo strumento *azoto RI* ad una velocità di flusso idonea fino ad ottenere una lettura costante;
- regolare la scala al 100 per cento facendo passare attraverso lo strumento *ossigeno RI* alla stessa velocità di flusso dell'*azoto RI* fino ad ottenere una lettura costante.

Determinazione quantitativa. Lasciare passare il gas da esaminare attraverso lo strumento ad una velocità di

flusso costante fino ad ottenere una lettura idonea. Registrare la concentrazione di ossigeno nel gas in esame.

2.5.28. ACQUA NEI GAS

L'acqua nei gas si determina usando l'igrometro elettrolitico descritto di seguito.

La cella di misura è costituita da una pellicola sottile di anidride fosforica, posta tra due fili di platino a forma di spirale che fungono da elettrodi. Il vapore acqueo presente nel gas da esaminare è adsorbito dall'anidride fosforica, che viene trasformata in acido fosforico, conduttore di elettricità. Una tensione continua applicata attraverso gli elettrodi produce l'elettrolisi dell'acqua e la rigenerazione dell'anidride fosforica. Misurare la corrente elettrica risultante che è proporzionale al contenuto in acqua del gas in esame. Il sistema è auto-calibrante dal momento che segue la legge di Faraday.

Prelevare un campione del gas in esame. Lasciare stabilizzare il gas a t.a. Depurare la cella continuamente fino ad ottenere una lettura costante. Misurare il contenuto di acqua nel gas in esame, assicurandosi che la temperatura sia costante in ogni parte del dispositivo usato per introdurre il gas nell'apparecchio.

2.5.29. DIOSSIDO DI ZOLFO

Introdurre 150 ml di *acqua R* nel pallone (A) (vedi Figura 2.5.29.-1) e far passare *diossido di carbonio R* attraverso l'intero sistema per 15 min alla velocità di 100 ml/min. A 10 ml di *idrogeno perossido soluzione diluita R* aggiungere 0,15 ml di una soluzione (1 g/l) di *blu bromofenolo R* in *alcool (20 per cento V/V) R*. Aggiungere *sodio idrossido 0,1 M* fino ad ottenere una colorazione blu-violetta, senza superare il punto finale. Introdurre la soluzione nella provetta (D). Senza interrompere il flusso di diossido di carbonio, rimuovere l'imbuto (B) ed introdurre, attraverso il collo del pallone (A), 25,0 g della sostanza in esame (*m g*) con l'ausilio di 100 ml di *acqua R*. Aggiungere, per mezzo dell'imbuto, 80 ml di *acido cloridrico diluito R* e bollire per 1 h. Aprire il rubinetto dell'imbuto, fermare il flusso di diossido di carbonio, interrompere il riscaldamento e l'acqua di raffreddamento. Trasferire il contenuto della provetta con l'ausilio di una piccola quantità di *acqua R* in una beuta a collo largo da 200 ml. Scaldare a b.m. per 15 min e lasciar raffreddare. Aggiungere 0,1 ml di una soluzione (1 g/l) di *blu bromofenolo R* in *alcool (20 per cento V/V) R* e titolare con *sodio idrossido 0,1 M* fino a che il colore cambia da giallo a blu-violetto (V_1 ml).

Effettuare una titolazione in bianco (V_2 ml).

Calcolare il contenuto di diossido di zolfo in parti per milione dalla espressione:

$$32030 \times (V_1 - V_2) \times \frac{n}{m}$$

n = molarità della soluzione di sodio idrossido usata come titolante.

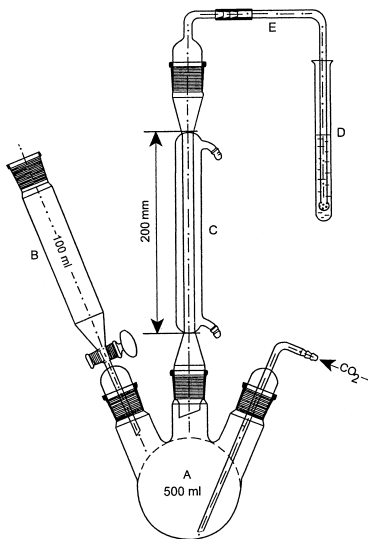


Figura 2.5.29.-1.- *Apparecchio per la determinazione del diossido di zolfo*

2.5.30. SOSTANZE OSSIDANTI

Trasferire 4,0 g in una beuta con tappo a smeriglio da 125 ml ed aggiungere 50,0 ml di *acqua R*. Inserire il tappo ed agitare per 5 min. Trasferire il contenuto in una provetta da centrifuga, con tappo a smeriglio da 50 ml e centrifugare. Trasferire 30,0 ml del liquido sopranatante limpido in una beuta con tappo a smeriglio da 125 ml. Aggiungere 1 ml di *acido acetico glaciale R* e 0,5 g-1,0 g di *potassio ioduro R*. Inserire il tappo, agitare e lasciare a riposo per 25-30 min al buio. Aggiungere 1 ml di *amido soluzione R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,002 M* fino a che il colore del complesso amido-iodio scompare. Effettuare una determinazione in bianco. Non sono necessari più di 1,4 ml di *sodio tiosolfato 0,002 M* (0,002 per cento, calcolato come H_2O_2)

1 ml di *sodio tiosolfato 0,002 M* equivale a 34 μg di sostanze ossidanti, calcolate come idrogeno perossido.

2.5.31. RIBOSIO NEI VACCINI POLISACCARIDICI

Soluzione in esame. Per la preparazione di una soluzione contenente circa 5 mg per millilitro di polisaccaride secco usare un pallone tarato di adatto volume. Trasferire quantitativamente il contenuto di un contenitore nel pallone e portare a volume con *acqua R*. Diluire la soluzione in modo che i volumi usati nel saggio contengano 2,5-25 μg di ribosio. Introdurre 0,20 ml e 0,40 ml della soluzione diluita, in triplicato, in idonei contenitori.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 25 mg di *ribosio R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente (soluzione madre contenente 0,25 g/l di ribosio). Immediatamente prima dell'uso, diluire 1 ml della soluzione madre a 10,0 ml con *acqua R* (diluizione di lavoro contenente 25 mg/l di ribosio). Introdurre 0,10 ml, 0,20 ml, 0,40 ml, 0,60 ml, 0,80 ml e 1,0 ml della diluizione di lavoro in sei provette.

Preparare una soluzione del bianco usando 2 ml di *acqua R*.

Portare il volume di ciascuna provetta a 2 ml con *acqua R* ed agitare. Aggiungere a ciascuna provetta 2 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R* in *acido cloridrico R* ed agitare. Aggiungere 0,2 ml di una soluzione (100 g/l) di *orcinolo R* in *etanolo R*. Porre i tubi a b.m. per 20 min. Raffreddare in acqua ghiacciata. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione a 670 nm usando la soluzione del bianco come liquido di compensazione. Tracciare una curva di taratura dalle letture di assorbanza delle sei soluzioni di

riferimento e il corrispondente contenuto di ribosio e leggere dalla curva la quantità di ribosio nella soluzione in esame per ciascun volume esaminato. Calcolare la media dei tre valori.

2.5.32. MICRODETERMINAZIONE DELL'ACQUA PRINCIPIO

La titolazione coulometrica dell'acqua si basa sulla reazione quantitativa dell'acqua con il diossido di zolfo e lo iodio in un mezzo anidro in presenza di una base con sufficiente capacità tampone. Rispetto al metodo volumetrico descritto precedentemente (2.5.12), lo iodio è prodotto elettrochimicamente nella cella di reazione mediante ossidazione dello ioduro. Lo iodio prodotto all'anodo reagisce immediatamente con l'acqua e il diossido di zolfo contenuti nella cella di reazione. La quantità di acqua nella sostanza è direttamente proporzionale alla quantità di elettricità fino al punto di fine titolazione. Quando viene consumata tutta l'acqua nella cella il punto di fine titolazione è raggiunto ed appare così un eccesso di iodio.

1 mole di iodio equivale a 1 mole di acqua, una quantità di elettricità di 10,71 C equivale a 1 mg di acqua.

Eliminare l'umidità dal sistema mediante pre-elettrolisi. Singole determinazioni possono essere effettuate successivamente nella stessa soluzione di reazione, rispettando le seguenti condizioni:

- ogni componente della miscela in esame deve essere compatibile con gli altri componenti,
- non deve verificarsi nessun'altra reazione,
- il volume e la capacità dell'acqua del reattivo elettrolitico devono essere sufficienti.

La titolazione coulometrica è ristretta alla determinazione quantitativa di piccole quantità di acqua; si raccomanda un intervallo di circa 10 µg-10 mg di acqua.

L'accuratezza e la precisione del metodo sono determinate essenzialmente dall'entità con la quale l'umidità atmosferica viene esclusa dal sistema. Il sistema deve essere controllato mediante la misurazione dell'entità della deriva della linea base.

APPARECCHIO

L'apparecchio è costituito da una cella di reazione, gli elettrodi ed un agitatore magnetico. La cella di reazione consiste di un grande compartimento anodico e di un compartimento più piccolo catodico. Entrambi i compartimenti possono essere separati da un diaframma a seconda della struttura dell'elettrodo. Ciascun compartimento contiene un elettrodo di platino. I campioni

liquidi o solubilizzati vengono introdotti attraverso un setto, usando una siringa. Alternativamente può essere usata una tecnica di evaporazione: il campione è scaldato in un tubo (stufa) e l'acqua è evaporata e trasportata nella cella per mezzo di un flusso di gas inerte secco. In generale, dovrebbe essere evitata l'introduzione di campioni solidi nella cella. Comunque, quando si verifica questo caso, il solido si introduce attraverso una porta sigillata. Devono essere prese appropriate precauzioni per evitare l'introduzione di umidità dall'aria, come lavorare in una cappa a guanti con atmosfera di gas inerte secco. La procedura analitica è controllata mediante un adatto dispositivo elettronico, dotato di un "display" numerico.

METODO

Riempire i compartimenti della cella di reazione con il *reattivo elettrolitico per la microdeterminazione dell'acqua R* in accordo con le istruzioni del produttore ed effettuare la titolazione coulometrica fino ad un punto di fine titolazione stabile. Introdurre la prescritta quantità della sostanza da esaminare nella cella di reazione, agitare per 30 s, se non diversamente indicato nella monografia, e titolare di nuovo fino ad un punto di fine titolazione stabile. Quando si usa una stufa, la prescritta quantità di campione viene introdotta nel tubo e scaldata. Iniziare la titolazione solo dopo che l'acqua è evaporata passando dal campione alla cella di titolazione. Leggere il valore numerico dal "display" dello strumento e calcolare, se necessario, la percentuale o la quantità di acqua che è presente nella sostanza. Effettuare una titolazione in bianco quando richiesta dal tipo e dalla preparazione del campione.

VERIFICA DELL'ACCURATEZZA

Tra due successive titolazioni del campione introdurre una quantità di acqua, accuratamente pesata, dello stesso ordine di grandezza della quantità di acqua presente nel campione utilizzando sia l'*acqua R* o la *soluzione standard per la microdeterminazione dell'acqua R*, ed effettuare la titolazione coulometrica. L'entità del recupero è compresa tra il 97,5 per cento e il 102,5 per cento, per una aggiunta di 1000 µg di H₂O e tra il 90,0 per cento al 110,0 per cento per un'aggiunta di 100 µg di H₂O.

2.5.33. PROTEINE TOTALI

Molti dei metodi di dosaggio descritti in questo capitolo possono essere eseguiti usando kit commerciali.

Metodo 1

Una proteina in soluzione assorbe luce ultravioletta ad una lunghezza d'onda di 280 nm, per la presenza nella sua struttura di aminoacidi aromatici, in particolare tirosina e triptofano; questa proprietà può essere usata per il dosaggio. Se il tampone usato per disciogliere una proteina ha un'alta assorbanza rispetto a quella dell'acqua, è presente una sostanza interferente. Questa interferenza può essere ovviata usando il tampone come liquido di compensazione ma se la sostanza interferente produce un'alta assorbanza, i risultati possono essere comunque compromessi. A basse concentrazioni, fenomeni di adsorbimento della proteina sulle pareti della cella possono ridurre significativamente il contenuto nella soluzione. Questo può essere prevenuto con la preparazione di campioni con una concentrazione più alta o usando nella preparazione un detergente non ionico.

Soluzione in esame. Disciogliere nel tampone prescritto una quantità adatta della sostanza in esame in modo da ottenere una soluzione con una concentrazione di proteina compresa tra 0,2 mg/ml e 2 mg/ml.

Soluzione di riferimento. Preparare una soluzione con una sostanza di riferimento appropriata per la proteina da determinare; utilizzare lo stesso tampone e la stessa concentrazione proteica della soluzione in esame.

Procedimento. Mantenere la soluzione in esame, la soluzione di riferimento e il liquido di compensazione alla stessa temperatura durante lo svolgimento di questo saggio. Determinare le assorbanze (2.2.25) della soluzione in esame e della soluzione di riferimento in celle di quarzo a 280 nm, usando il tampone prescritto come liquido di compensazione. Per ottenere risultati accurati la risposta deve essere lineare nell'intervallo delle concentrazioni proteiche che devono essere determinate.

Dispersione della luce. L'accuratezza della determinazione della proteina può essere diminuita dalla dispersione della luce da parte del campione in esame. Se le proteine in soluzione sono presenti come particelle con dimensioni dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda della luce utilizzata (da 250 nm a 300 nm), la dispersione del fascio di luce produce un aumento apparente dell'assorbanza del campione in esame. Per calcolare il contributo all'assorbanza a 280 nm dovuto alla dispersione, determinare le assorbanze della soluzione in esame alle lunghezze d'onda di 320 nm, 325 nm, 330 nm, 335 nm, 340 nm, 345 nm e 350 nm. Riportare il logaritmo dell'assorbanza osservata in funzione del logaritmo della lunghezza d'onda e determinare mediante regressione lineare la curva di

taratura che meglio si adatta ai punti riportati sul grafico. Determinare, per estrapolazione dalla curva, il logaritmo dell'assorbanza a 280 nm. L'antilogaritmo di questo valore è l'assorbanza attribuita alla dispersione della luce. Correggere i valori osservati sottraendo l'assorbanza attribuita alla dispersione della luce dall'assorbanza totale a 280 nm per ottenere il valore di assorbanza della proteina nella soluzione. Per ridurre l'effetto della dispersione della luce, specialmente se la soluzione è notevolmente torbida, può essere eseguita una filtrazione con un filtro da 0,2 µm che non adsorbe la proteina o una chiarificazione mediante centrifugazione.

Calcoli. Per effettuare i calcoli usare i valori corretti. Calcolare la concentrazione della proteina nella soluzione in esame (C_U) dall'equazione seguente:

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

C_S = concentrazione della proteina nella soluzione di riferimento

A_U e A_S = assorbanze corrette, rispettivamente, della soluzione in esame e della soluzione di riferimento.

Metodo 2

Questo metodo (comunemente chiamato dosaggio di Lowry) è basato sulla riduzione del cromogeno dell'acido fosfomolibdotungstico provocata dalla proteina, nel reattivo fosfomolibdotungstico; questa riduzione dà luogo ad un massimo di assorbanza a 750 nm. Il reattivo fosfomolibdotungstico reagisce in particolare con i residui di tirosina nella proteina. Lo sviluppo di colore raggiunge il massimo in 20-30 min a temperatura ambiente; successivamente si verifica una graduale perdita di colore. Poiché il metodo è sensibile a sostanze interferenti, può essere usata una procedura di precipitazione della proteina dal campione in esame. La maggior parte delle sostanze interferenti causano una minore colorazione; tuttavia alcuni detersivi danno luogo ad un lieve incremento della colorazione. Un'alta concentrazione salina può causare la formazione di un precipitato. Poiché diverse proteine possono dare come risposta differenti intensità di colore, la sostanza di riferimento e la proteina in esame devono essere le stesse. Qualora nel campione in esame sia necessaria la separazione delle sostanze interferenti dalla proteina, procedere prima della preparazione della soluzione in esame come descritto di seguito per le sostanze interferenti. L'effetto delle sostanze interferenti può essere

minimizzato mediante diluizione, purché la concentrazione della proteina in esame rimanga abbastanza elevata per una misurazione accurata.

Usare *acqua distillata R* per preparare tutti i tamponi e i reattivi usati in questo metodo.

Soluzione in esame. Disciogliere nel tampone prescritto una quantità appropriata della sostanza in esame, in modo da ottenere una soluzione con una concentrazione compresa nell'intervallo della curva di taratura. Un tampone adatto darà luogo ad una soluzione con pH compreso tra 10,0 e 10,5.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere nel tampone prescritto la sostanza di riferimento per la proteina che deve essere determinata. Diluire porzioni di questa soluzione con lo stesso tampone in modo da ottenere almeno cinque soluzioni di riferimento con concentrazioni della proteina uniformemente distribuite in un adatto intervallo compreso tra 5 µg/ml e 100 µg/ml.

Soluzione del bianco. Usare il tampone utilizzato per preparare la soluzione in esame e le soluzioni di riferimento.

Reattivo al rame solfato. Disciogliere 100 mg di *rame solfato R* e 0,2 g di *sodio tartrato R* in *acqua distillata R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Disciogliere 10 g di *sodio carbonato anidro R* in *acqua distillata R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Versare lentamente, mescolando, la soluzione di sodio carbonato nella soluzione di rame solfato. Utilizzare entro le 24 h.

Reattivo alcalino al rame. Mescolare 1 volume di reattivo al rame solfato, 2 volumi di una soluzione (50 g/l) di *sodio dodecilsolfato R* e 1 volume di una soluzione (32 g/l) di *sodio idrossido R*. Conservare a temperatura ambiente ed utilizzare entro 2 settimane.

Fosfomolibdotungstico reattivo diluito. Mescolare 5 ml di *fosfomolibdotungstico reattivo R* con 55 ml di *acqua distillata R*. Conservare a temperatura ambiente in una bottiglia di vetro scuro.

Procedimento. Ad 1,0 ml della soluzione in esame, della soluzione del bianco e di ciascuna soluzione di riferimento aggiungere 1,0 ml di rame alcalino reattivo e mescolare. Lasciare a riposo per 10 min. Aggiungere 0,5 ml di fosfomolibdotungstico reattivo diluito, mescolare e lasciare a riposo a temperatura ambiente per 30 min. Determinare l'assorbanza (2.2.25) delle soluzioni a 750 nm, usando la soluzione del bianco come liquido di compensazione.

Calcoli. La relazione tra l'assorbanza e la concentrazione della proteina non è lineare; comunque, se l'intervallo delle concentrazioni usate per preparare la curva di taratura è sufficientemente piccolo, essa si avvicinerà

alla linearità. Riportare le assorbanze delle soluzioni di riferimento in funzione delle concentrazioni della proteina e usare una regressione lineare per determinare la curva di taratura. Determinare la concentrazione della proteina nella soluzione in esame dalla curva di taratura e dall'assorbanza della soluzione in esame.

Sostanze interferenti. Nella seguente procedura al campione in esame viene aggiunto dell'acido tricloroacetico-deossicolato per rimuovere le sostanze interferenti mediante precipitazione delle proteine prima del saggio; questa tecnica può anche essere usata per concentrare le proteine da una soluzione diluita.

Ad 1 ml di una soluzione della sostanza in esame aggiungere 0,1 ml di una soluzione (1,5 g/l) di *sodio deossicolato R*. Mescolare usando un miscelatore vortex e lasciare a riposo a temperatura ambiente per 10 min. Aggiungere 0,1 ml di una soluzione (720 g/l) di *acido tricloroacetico R* e mescolare usando un miscelatore vortex. Centrifugare a 3000 g per 30 min, decantare il liquido e rimuovere ogni liquido residuo con una pipetta. Ridisciogliere il sedimento di proteina in 1 ml di rame alcalino reattivo.

Metodo 3

Questo metodo (comunemente chiamato dosaggio di Bradford) è basato sullo spostamento dell'assorbimento da 470 nm a 595 nm osservato quando il colorante acido blu 90 si lega alla proteina. Il colorante acido blu 90 si lega più rapidamente ai residui di arginina e di lisina delle proteine e questo può portare per proteine differenti ad una variazione nella risposta del dosaggio. La proteina usata come sostanza di riferimento deve essere la stessa della proteina da determinare. Anche se esistono relativamente poche sostanze interferenti, è preferibile non avere detergenti e anfoliti nel campione in esame. Campioni fortemente alcalini possono interferire con il reattivo acido.

Usare *acqua distillata R* per preparare tutti i tamponi e i reattivi usati per questo metodo.

Soluzione in esame. Disciogliere nel tampone prescritto una quantità appropriata della sostanza in esame in modo da ottenere una soluzione con una concentrazione compresa nell'intervallo della curva di taratura.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere nel tampone prescritto la sostanza di riferimento per la proteina da determinare. Diluire porzioni di questa soluzione con lo stesso tampone in modo da ottenere almeno cinque soluzioni di riferimento con concentrazioni della proteina uniformemente distribuite in un adatto intervallo compreso tra 0,1 mg/ml e 1 mg/ml.

Proteine totali

Soluzione del bianco. Usare il tampone utilizzato per preparare la soluzione in esame e le soluzioni di riferimento.

Reattivo al blu acido 90. Disciogliere 0,10 g di *acido blu 90 R* in 50 ml di *alcool R*. Aggiungere 100 ml di *acido fosforico R*, diluire a 1000 ml con *acqua distillata R* e mescolare. Filtrare la soluzione e conservare a temperatura ambiente in una bottiglia di vetro scuro. Durante la conservazione si verifica una lenta precipitazione del colorante. Filtrare il reattivo prima dell'uso.

Procedimento. A 0,100 ml della soluzione in esame, della soluzione del bianco e di ciascuna soluzione di riferimento, aggiungere 5 ml del reattivo all'acido blu 90. Mescolare capovolgendo i recipienti delle soluzioni evitando la formazione di schiuma che provocherebbe una minore riproducibilità. Determinare le assorbanze (2.2.25) delle soluzioni di riferimento e della soluzione in esame a 595 nm, usando la soluzione del bianco come liquido di compensazione. Non usare celle spettrofotometriche al quarzo (silice) perché il colorante si lega a questo materiale.

Calcoli. La relazione tra l'assorbanza e la concentrazione della proteina non è lineare; comunque, se l'intervallo delle concentrazioni usate per preparare la curva di taratura è sufficientemente piccolo, essa si avvicinerà alla linearità. Riportare le assorbanze delle soluzioni di riferimento in funzione delle concentrazioni della proteina ed usare una regressione lineare per determinare la curva di taratura. Determinare la concentrazione della proteina nella soluzione in esame dalla curva di taratura e dall'assorbanza della soluzione in esame.

Metodo 4

Questo metodo (comunemente chiamato dosaggio con acido bicinconinico o dosaggio BCA) è basato sulla riduzione, da parte della proteina, dello ione rameico (Cu^{2+}) a ione rameoso (Cu^{1+}). Il reattivo all'acido bicinconinico è usato per rivelare lo ione rameoso. Poche sostanze interferiscono con la reazione; quando sono presenti sostanze interferenti il loro effetto può essere minimizzato mediante diluizione, purché la concentrazione della proteina in esame rimanga ad un valore sufficiente per una misurazione accurata. Per rimuovere le sostanze interferenti può essere usata, in alternativa, la procedura di precipitazione della proteina descritta nel Metodo 2. Poiché i differenti tipi di proteine possono dare come risposta differenti intensità di colore, la proteina di riferimento e la proteina in esame devono essere le stesse.

Usare *acqua distillata R* per preparare tutti i tamponi e i reattivi usati per questo metodo.

Soluzione in esame. Disciogliere nel tampone prescritto una quantità appropriata della sostanza in esame in modo da ottenere una soluzione con una concentrazione compresa nell'intervallo delle concentrazioni delle soluzioni di riferimento.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere nel tampone prescritto la sostanza di riferimento per la proteina da determinare. Diluire porzioni di questa soluzione con lo stesso tampone in modo da ottenere almeno cinque soluzioni di riferimento con concentrazioni della proteina uniformemente distribuite in un adatto intervallo compreso tra 10 $\mu\text{g/ml}$ e 1200 $\mu\text{g/ml}$.

Soluzione del bianco. Usare il tampone utilizzato per preparare la soluzione in esame e le soluzioni di riferimento.

BCA-reattivo. Disciogliere 10 g di *disodio bicinconinato R*, 20 g di *sodio carbonato monoidrato R*, 1,6 g di *sodio tartrato R*, 4 g di *sodio idrossido R* e 9,5 g di *sodio bicarbonato R* in *acqua distillata R*. Se necessario portare il pH a 11,25 con una soluzione di *sodio idrossido R* o una soluzione di *sodio bicarbonato R*. Diluire a 1000 ml con *acqua distillata R* e mescolare.

Reattivo al rame-BCA. Mescolare 1 ml di una soluzione (40 g/l) di *rame solfato R* e 50 ml di *BCA-reattivo*.

Procedimento. Mescolare 0,1 ml della soluzione in esame, della soluzione del bianco e di ciascuna soluzione di riferimento con 2 ml di reattivo al rame-BCA. Incubare le soluzioni a 37 °C per 30 min, annotare l'ora e lasciare raffreddare le miscele a temperatura ambiente. Entro 60 min dalla fine dell'incubazione, determinare le assorbanze (2.2.25) delle soluzioni di riferimento e della soluzione in esame in celle di quarzo a 562 nm, usando la soluzione del bianco come liquido di compensazione. Dopo il raffreddamento delle soluzioni a temperatura ambiente, l'intensità del colore continua ad aumentare gradualmente.

Calcoli. La relazione tra l'assorbanza e la concentrazione della proteina non è lineare; comunque se l'intervallo delle concentrazioni usate per preparare la curva di taratura è sufficientemente piccolo, essa si avvicinerà alla linearità. Riportare le assorbanze delle soluzioni di riferimento in funzione delle concentrazioni di proteina ed usare una regressione lineare per determinare la curva di taratura. Determinare la concentrazione della proteina nella soluzione in esame dalla curva di taratura e dall'assorbanza della soluzione in esame.

Metodo 5

Questo metodo (comunemente chiamato dosaggio del biureto) è basato sull'interazione, in soluzione alcalina, dello ione rameico (Cu^{2+}) con la proteina e conseguente sviluppo di una assorbanza a 545 nm. Questo dosaggio presenta una differenza minima tra campioni equivalenti di IgG e di albumina. L'aggiunta di sodio idrossido e del reattivo al biureto come reattivo combinato, l'insufficiente mescolamento dopo l'aggiunta del sodio idrossido, o un tempo lungo tra l'aggiunta della soluzione di sodio idrossido e l'aggiunta del reattivo al biureto, indurrà per i campioni di IgG una più alta risposta rispetto ai campioni di albumina. Il metodo dell'acido tricloroacetico, usato per minimizzare gli effetti delle sostanze interferenti, può anche essere usato per determinare il contenuto di proteina in campioni in esame aventi concentrazioni inferiori a 500 μg per millilitro.

Usare *acqua distillata R* per preparare tutti i tamponi e i reattivi usati per questo metodo.

Soluzione in esame. Disciogliere in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* una quantità appropriata della sostanza in esame in modo da ottenere una soluzione con una concentrazione compresa nell'intervallo delle concentrazioni delle soluzioni di riferimento.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* la sostanza di riferimento per la proteina da determinare. Diluire porzioni di questa soluzione con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere almeno tre soluzioni di riferimento con concentrazioni della proteina distribuite uniformemente in un intervallo appropriato tra 0,5 mg/ml e 10 mg/ml.

Soluzione del bianco. Usare una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*.

Reattivo al biureto. Disciogliere 3,46 g di *rame solfato R* in 10 ml di *acqua distillata R* calda e lasciar raffreddare (Soluzione A). Disciogliere 34,6 g di *sodio citrato R* e 20,0 g di *sodio carbonato anidro R* in 80 ml di *acqua distillata R* calda, e lasciar raffreddare (Soluzione B). Mescolare le soluzioni A e B e diluire a 200 ml con *acqua distillata R*. Usare entro 6 mesi. Non usare il reattivo se sviluppa torbidità o se contiene un qualsiasi precipitato.

Procedimento. Ad un volume della soluzione in esame aggiungere un volume uguale di una soluzione (60 g/l) di *sodio idrossido R* e mescolare. Aggiungere immediatamente il reattivo al biureto equivalente a 0,4 volumi della soluzione in esame e mescolare rapidamente.

Lasciare a riposo ad una temperatura compresa tra 15 °C e 25 °C per non meno di 15 min. Entro 90 min dall'aggiunta del reattivo al biureto, determinare le assorbanze (2.2.25) delle soluzioni di riferimento e della soluzione in esame al massimo di 545 nm, usando la soluzione del bianco come liquido di compensazione. Ogni soluzione che sviluppa torbidità o un precipitato non è accettabile per la determinazione della concentrazione della proteina.

Calcoli. La relazione tra l'assorbanza e la concentrazione della proteina è approssimativamente lineare entro l'intervallo indicato di concentrazioni della proteina delle soluzioni di riferimento. Riportare le assorbanze delle soluzioni di riferimento in funzione delle concentrazioni della proteina ed usare una regressione lineare per determinare la curva di taratura. Calcolare il coefficiente di correlazione per la curva di taratura. Un sistema adatto è quello che produce una linea con un coefficiente di correlazione non inferiore a 0,99. Determinare la concentrazione della proteina nella soluzione in esame dalla curva di taratura e dalla assorbanza della soluzione in esame.

Sostanze interferenti. Per minimizzare l'effetto delle sostanze interferenti, la proteina può essere precipitata dal campione in esame come segue: ad 1 volume di una soluzione del campione in esame aggiungere 0,1 volumi di una soluzione (500 g/l) di *acido tricloroacetico R*, eliminare lo strato soprastante e disciogliere il precipitato in un piccolo volume di *sodio idrossido 0,5 M*. Usare la soluzione ottenuta per preparare la soluzione in esame.

Metodo 6

Questo metodo fluorimetrico è basato sulla derivatizzazione della proteina con *o*-ftalaldeide che reagisce con le ammine primarie della proteina (l'azoto terminale dell'amminoacido ed il gruppo ϵ -ammino dei residui di lisina). La sensibilità del dosaggio può essere aumentata idrolizzando la proteina prima dell'aggiunta della *o*-ftalaldeide. L'idrolisi rende disponibile il gruppo α -amminico degli amminoacidi costituenti per la reazione con il reattivo alla ftalaldeide. Il metodo richiede quantità molto piccole di proteina. Ammine primarie, come il tris(idrossimetil)amminometano e i tamponi amminoacidici, reagiscono con la ftalaldeide e devono essere pertanto evitati o rimossi. L'ammoniaca ad alte concentrazioni reagisce con la ftalaldeide. La fluorescenza ottenuta quando l'ammina reagisce con la ftalaldeide

deide può essere instabile. L'uso di procedure automatizzate per standardizzare questo metodo può aumentare l'accuratezza e la precisione del saggio.

Usare *acqua distillata R* per preparare tutti i tamponi e i reattivi usati per questo metodo.

Soluzione in esame. Disciogliere in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* una quantità adatta della sostanza da esaminare. Diluire alcune porzioni di questa soluzione con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere una soluzione a concentrazione compresa nell'intervallo delle concentrazioni delle soluzioni di riferimento. Portare il pH della soluzione tra 8 e 10,5 prima di aggiungere la ftalaldeide.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* la sostanza di riferimento per la proteina da determinare. Diluire alcune porzioni di questa soluzione con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere almeno cinque soluzioni di riferimento con concentrazioni proteiche distribuite uniformemente in un intervallo adatto compreso tra 10 µg/ml e 200 µg/ml. Portare le soluzioni ad un pH compreso tra 8 e 10,5 prima dell'aggiunta del reattivo alla ftalaldeide.

Soluzione del bianco. Usare una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*.

Borato soluzione tampone. Disciogliere 61,83 g di *acido borico R* in *acqua distillata R* e portare il pH a 10,4 con una soluzione di *potassio idrossido R*. Diluire a 1000 ml con *acqua distillata R* e mescolare.

Ftalaldeide soluzione madre. Disciogliere 1,20 g di *ftalaldeide R* in 1,5 ml di *metanolo R*, aggiungere 100 ml di borato soluzione tampone e mescolare. Aggiungere 0,6 ml di una soluzione (300 g/l) di *macrogol 23 lauril-etero R* e mescolare. Conservare a temperatura ambiente ed usare entro 3 settimane.

Reattivo alla ftalaldeide. A 5 ml di ftalaldeide soluzione madre aggiungere 15 µl di *2-mercaptoetanololo R*. Preparare almeno 30 min prima dell'uso ed usare entro 24 h.

Procedimento. Mescolare 10 µl della soluzione in esame e di ciascuna delle soluzioni di riferimento con 0,1 ml di reattivo alla ftalaldeide e lasciare a riposo a temperatura ambiente per 15 min. Aggiungere 3 ml di *sodio idrossido 0,5 M* e mescolare. Determinare l'intensità della fluorescenza (2.2.21) delle soluzioni sia per le soluzioni di riferimento e che per la soluzione in esame con una lunghezza d'onda di eccitazione di 340 nm e ad una lunghezza d'onda di emissione compresa tra

440 nm e 455 nm. Misurare l'intensità della fluorescenza di un dato campione solo una volta, poiché l'irraggiamento diminuisce l'intensità di fluorescenza.

Calcoli. La relazione tra la fluorescenza e la concentrazione della proteina è lineare. Riportare l'intensità della fluorescenza delle soluzioni di riferimento in funzione delle concentrazioni delle proteine ed usare una regressione lineare per determinare la curva di taratura. Determinare la concentrazione della proteina nella soluzione in esame dalla curva di taratura e dall'intensità della fluorescenza della soluzione in esame.

Metodo 7

Questo metodo è basato sull'analisi dell'azoto come mezzo di determinazione di una proteina. L'interferenza causata dalla presenza, nella proteina in esame, di altre sostanze contenenti azoto può influenzare la determinazione della proteina effettuata con questo metodo. Le tecniche di analisi dell'azoto distruggono il campione in esame durante le analisi ma non sono limitate al solo caso di proteina in ambiente acquoso.

Procedimento A. Procedere come prescritto per la determinazione dell'azoto mediante digestione con acido solforico (2.5.9) o usare una strumentazione commerciale per il dosaggio Kjeldahl dell'azoto.

Procedimento B. E' disponibile una strumentazione commerciale per l'analisi dell'azoto. La maggior parte degli strumenti per l'analisi dell'azoto è basata sulla pirolisi (per es. combustione del campione in ossigeno a temperature che raggiungono 1000 °C) che dall'azoto presente nella sostanza in esame dà luogo alla formazione di azoto monossido (NO) e altri ossidi di azoto (NO_x). Alcuni strumenti convertono gli ossidi di azoto in azoto gassoso, che è quantificato mediante un rivelatore di conduttività termica. Altri strumenti mescolano azoto monossido (NO) con ozono (O₃) per produrre diossido di azoto in uno stato eccitato (NO₂*), che emette luce quando decade e può essere quantificato con un rivelatore di chemiluminescenza. Un materiale di riferimento proteico relativamente puro e simile per composizione alle proteine in esame è usato per ottimizzare l'iniezione e i parametri di pirolisi e per valutare la riproducibilità dell'analisi.

Calcoli. La concentrazione della proteina è calcolata dividendo il contenuto di azoto del campione per il contenuto teorico di azoto della proteina. Il contenuto teorico di azoto della proteina può essere determinato dalla composizione chimica della proteina o per confronto con una sostanza di riferimento appropriata.

2.5.34. ACIDO ACETICO NEI PEPTIDI SINTETICI

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Preparare come descritto nella monografia.

Soluzione di riferimento. Preparare una soluzione (0,10 g/l) di *acido acetico glaciale R* in una miscela di 5 volumi di fase mobile B e 95 volumi di fase mobile A.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 μ m),
- come fase mobile ad una velocità di flusso di 1,2 ml/min:

Fase mobile A. Diluire 0,7 ml di *acido fosforico R* a 1000 ml con *acqua R*; aggiustare il pH a 3,0 con *sodio idrossido soluzione concentrata R*,

Fase mobile B. *Metanolo R2*,

Tempo (min)	Fase mobile A (per cento V/V)	Fase mobile B (per cento V/V)
0 - 5	95	5
5 - 10	95 → 50	5 → 50
10 - 20	50	50
20 - 22	50 → 95	50 → 5
22 - 30	95	5

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 210 nm.

Iniettare 10 μ l della soluzione di riferimento e 10 μ l della soluzione in esame. Nel cromatogramma ottenuto, il picco corrispondente all'acido acetico ha un tempo di ritenzione di 3-4 min. La linea di base presenta un innalzamento, dopo l'inizio del gradiente lineare, che corrisponde all'eluizione del peptide dalla colonna. Determinare il contenuto di acido acetico nel peptide.

2.5.35. AZOTO PROTOSSIDO NEI GAS

L'azoto protossido nei gas è determinato usando un analizzatore infrarosso (vedere Figura 2.5.35.-1).

L'analizzatore infrarosso comprende 2 generatori di raggi infrarossi identici. I generatori sono provvisti di riflettori e spirali elettricamente riscaldate al basso rosso. I raggi emessi attraversano rispettivamente una cella campione e una cella di riferimento. La cella campione riceve un flusso del gas in esame e la cella di riferimento contiene *azoto R1*. Le due camere del rivelatore sono riempite con *azoto protossido R* e la radiazione è selettivamente ricevuta in maniera automatica. L'assorbimento di questa radiazione provoca un riscaldamento ed una dilatazione del gas con ampiezza diversa nelle due camere a seguito dell'assorbimento di una parte della radiazione emessa dal protossido di azoto contenuto nel gas in esame. La differenza di pressione tra le due camere del rivelatore provoca una deformazione del diaframma metallico che le separa. Questo diaframma è parte di un condensatore, la cui capacità varia con la variazione di pressione, che dipende a sua volta dal contenuto di azoto protossido nel gas in esame. Poiché i raggi infrarossi sono periodicamente bloccati dalla rotazione di un otturatore il segnale elettrico è modulato in frequenza.

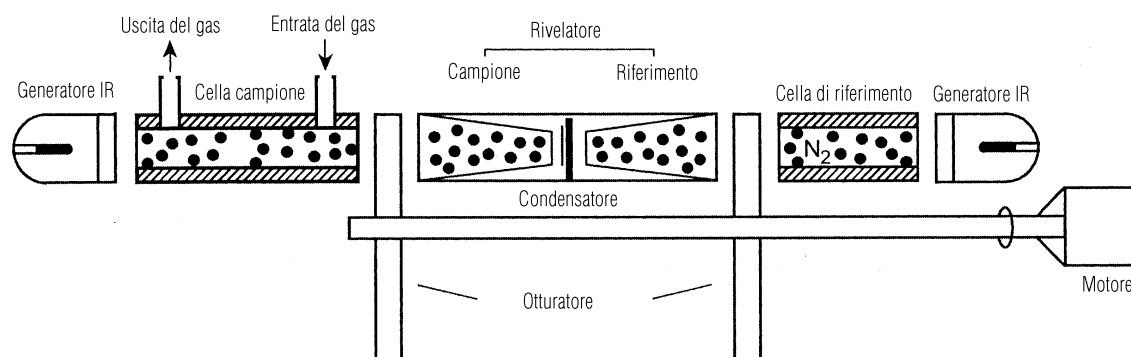


Figura 2.5.35.-1. Analizzatore infrarosso

2.5.36. INDICE DI ANISIDINA

L'indice di anisidina è definito come 100 volte la densità ottica, misurata in una cella di 1 cm, di una soluzione contenente 1 g della sostanza in esame in 100 ml di una miscela di solventi e reattivi in accordo con il metodo descritto di seguito.

Effettuare le operazioni il più rapidamente possibile, evitando l'esposizione alla luce attinica.

Soluzione in esame (a). Disciogliere 0,500 g della sostanza in esame in *trimetilpentano R* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione in esame (b). A 5,0 ml della soluzione in esame (a) aggiungere 1,0 ml di una soluzione (2,5 g/l) di *p-anisidina R* in *acido acetico glaciale R*, agitare e conservare al riparo dalla luce.

Soluzione di riferimento. A 5,0 ml di *trimetilpentano R* aggiungere 1,0 ml di una soluzione (2,5 g/l) di *p-anisidina R* in *acido acetico glaciale R*, agitare e conservare al riparo dalla luce.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione in esame (a) al massimo a 350 nm usando *trimetilpentano R* come liquido di compensazione. Misurare l'assorbanza della soluzione in esame (b) a 350 nm esattamente 10 minuti dopo la sua preparazione, usando la soluzione di riferimento come liquido di compensazione.

Calcolare l'indice di anisidina mediante l'espressione seguente:

$$\frac{25 \times (1,2 A_1 - A_2)}{m}$$

A_1 = assorbanza della soluzione in esame (b) a 350 nm,

A_2 = assorbanza della soluzione in esame (a) a 350 nm,

m = massa della sostanza in esame nella soluzione in esame (a), in grammi.

2.6 Saggi biologici

2.6.	Saggi biologici	193	2.6.18.	Saggio per la neurovirulenza dei vaccini di virus vivi	240
2.6.1.	Sterilità	193	2.6.19.	Saggio per la neurovirulenza del vaccino poliomielitico per uso orale	240
2.6.2.	Micobatteri	198	2.6.20.	Emoagglutinine anti-A ed anti-B (metodo indiretto)	242
2.6.7.	Micoplasmi	198	2.6.21.	Tecniche di amplificazione dell'acido nucleico	242
2.6.8.	Pirogeni	206	2.6.22.	Fattori della coagulazione attivati	247
2.6.9.	Tossicità anormale.	207	2.6.24.	Vaccini virali aviari: ricerca degli agenti estranei nei lotti di semenza	247
2.6.10.	Istamina.	208	2.6.25.	Vaccini virali aviari vivi: ricerca degli agenti estranei nei lotti di prodotto finito	252
2.6.11.	Sostanze ipotensive	209	2.6.26.	Saggio per gli anticorpi anti-D nella immunoglobulina umana per somministrazione endovenosa	258
2.6.12.	Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggi di conta microbica	209	2.6.27.	Controllo microbiologico dei prodotti cellulari	259
2.6.13.	Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggio per i microrganismi specificati.	216			
2.6.14.	Endotossine batteriche	223			
2.6.15.	Attivatore della precallicreina	234			
2.6.16.	Saggio per gli agenti estranei nei vaccini virali per uso umano	235			
2.6.17.	Attività anticomplementare dell'immunoglobulina	237			

2.6. SAGGI BIOLOGICI

2.6.1. STERILITÀ

Il saggio si applica alle sostanze, alle preparazioni o ai materiali che, in accordo con la Farmacopea, devono essere sterili. Comunque un risultato soddisfacente indica solo che non sono stati riscontrati microrganismi contaminanti nel campione esaminato nelle condizioni del saggio.

PRECAUZIONI RIGUARDANTI LA CONTAMINAZIONE MICROBICA

Il saggio di sterilità è condotto in condizioni asettiche. Per ottenere tali condizioni l'area di saggio deve essere adeguata al modo in cui viene condotto il saggio di sterilità stesso. Le precauzioni prese per evitare la contaminazione non devono influire sui microrganismi ricercati mediante il saggio. Le condizioni di lavoro nelle quali i saggi sono eseguiti sono controllate regolarmente mediante un appropriato campionamento fatto nell'area di lavoro ed effettuando controlli appropriati.

TERRENI DI COLTURA E TEMPERATURE DI INCUBAZIONE

I terreni di coltura per il saggio possono essere preparati come descritto di seguito o possono essere utilizzate preparazioni commerciali equivalenti purché soddisfino al saggio di fertilità.

I terreni di coltura riportati di seguito si sono rivelati appropriati per il saggio di sterilità. Il terreno di coltura fluido al tioglicolato è destinato principalmente alla coltura di batteri anaerobi, ma permette anche di evidenziare i batteri aerobi. Il terreno di coltura di idrolizzato di soia e caseina è appropriato sia per la coltura dei funghi che dei batteri aerobi.

Terreno fluido al tioglicolato

L-Cistina	0,5	g
Agar	0,75	g
Sodio cloruro	2,5	g
Glucosio monoidrato/anidro	5,5 g/5,0	g
Estratto di lievito (solubile in acqua)	5,0	g
Idrolizzato pancreatico di caseina	15,0	g
Sodio tioglicolato oppure	0,5	g
Acido tioglicolico	0,3	ml
Resazurina sodica soluzione (1 g/l di resazurina sodica), preparata di recente	1,0	ml
Acqua R	1000	ml

pH del terreno dopo la sterilizzazione $7,1 \pm 0,2$

Mescolare la L-cistina, l'agar, il sodio cloruro, il glucosio, l'estratto di lievito solubile in acqua e l'idrolizzato pancreatico di caseina con l'acqua R e scaldare fino ad ottenere una soluzione. Sciogliere il sodio tioglicolato o l'acido tioglicolico nella soluzione e, se necessario,

aggiungere sodio idrossido 1M in modo che, dopo sterilizzazione, la soluzione abbia un pH di $7,1 \pm 0,2$. Se è necessaria la filtrazione, scaldare di nuovo la soluzione senza bollire e filtrarla ancora calda attraverso un filtro di carta bagnato. Aggiungere la soluzione di resazurina sodica, mescolare e distribuire il terreno di coltura in appropriati recipienti facendo in modo che il rapporto superficie/profondità del terreno di coltura sia tale che non più della metà superiore del terreno subisca alla fine del periodo di incubazione un cambiamento di colore indicativo della cattura di ossigeno. Sterilizzare utilizzando un processo convalidato. Se il terreno viene conservato, conservarlo ad una temperatura tra 2 °C e 25 °C in un recipiente sterile, sigillato. Se più di un terzo della parte superiore del terreno ha acquisito una colorazione rosa, il terreno può essere ripristinato una volta, riscaldando i contenitori a b.m. o in vapore fluente fino a che il colore rosa non scompaia, avendo cura di raffreddare lentamente ed evitando che aria non sterile possa entrare all'interno del contenitore. Non usare il terreno per periodi più lunghi di quelli convalidati.

Il terreno fluido tioglicolato deve essere incubato ad una temperatura di 30 °C - 35 °C.

Per i prodotti contenenti un conservante mercuriale, ai quali non è applicabile il metodo di filtrazione su membrana, il terreno fluido al tioglicolato incubato a 20-25 °C può sostituire il terreno di idrolizzato di soia e caseina purché sia stato convalidato come descritto nel saggio di fertilità.

Quando prescritto o giustificato e autorizzato, può essere utilizzato il seguente terreno tioglicolato alternativo. Preparare una miscela avente la stessa composizione del terreno fluido al tioglicolato ma senza aggiungere l'agar e la resazurina sodica soluzione e poi sterilizzare come descritto di seguito. Il pH dopo sterilizzazione è $7,1 \pm 0,2$. Scaldare in un bagno maria prima dell'uso ed incubare a 30-35 °C in condizioni anaerobiche.

Terreno di idrolizzato di soia e caseina

Idrolizzato pancreatico di caseina	17,0	g
Idrolizzato papaico di farina di soia	3,0	g
Sodio cloruro	5,0	g
Potassio fosfato dibasico	2,5	g
Glucosio monoidrato/anidro	2,5 g/2,3	g
Acqua R	1000	ml

pH del terreno dopo la sterilizzazione $7,3 \pm 0,2$

Sciogliere i solidi in acqua R, scaldare leggermente per ottenere una soluzione. Raffreddare la soluzione a temperatura ambiente. Aggiungere sodio idrossido 1M, se

necessario, in modo che dopo la sterilizzazione, la soluzione abbia un pH di $7,3 \pm 0,2$. Filtrare, se necessario, per chiarificare, distribuire in appropriati recipienti e sterilizzare utilizzando un procedimento convalidato. Conservare ad una temperatura tra 2 °C e 25 °C in un recipiente sterile, sigillato, a meno che il terreno non venga usato immediatamente. Non usare il terreno per periodi più lunghi di quelli convalidati.

Il terreno di idrolizzato di soia e caseina deve essere incubato a una temperatura tra 20 °C e 25 °C.

I terreni utilizzati devono soddisfare i seguenti saggi eseguiti prima o contemporaneamente al saggio effettuato sul prodotto in esame.

Sterilità. Incubare porzioni dei terreni per 14 giorni. Non si deve verificare crescita di microrganismi.

Saggio di fertilità per aerobi, anaerobi e funghi. Esaminare ogni lotto di terreno preconfezionato e ogni lotto di terreno preparato sia con ingredienti disidratati che con altri ingredienti. Le specie appropriate di microrganismi da utilizzare sono indicate in tabella 2.6.1.-1.

Inoculare delle porzioni di terreno fluido al tioglicolato con un piccolo numero (non più di 100 UFC) dei seguenti microrganismi, usando aliquote separate di terreno per ciascuna delle seguenti specie microbiche: *Clostridium sporogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Inoculare delle porzioni di terreno di idrolizzato di soia e caseina con un piccolo numero (non più di 100 UFC) dei seguenti microrganismi, usando aliquote separate di terreno per ciascuna delle seguenti specie microbiche: *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*. Incubare per non più di 3 giorni nel caso dei batteri e non più di 5 giorni nel caso dei funghi.

Le tecniche di mantenimento della coltura del lotto di semenza (sistema del lotto di semenza) sono tali che i microrganismi vivi usati per l'inoculo non hanno subito più di 5 passaggi dal lotto di semenza primario iniziale.

I terreni di coltura sono appropriati se si verifica una crescita dei microrganismi chiaramente visibile.

SAGGIO DI APPLICABILITÀ DEL METODO

Effettuare il saggio nelle stesse condizioni indicate al paragrafo successivo "Saggio di sterilità del prodotto da esaminare" usando esattamente lo stesso metodo ad eccezione delle modifiche seguenti.

Filtrazione su membrana. Dopo trasferimento del contenuto del o dei recipienti da esaminare sulla membrana, aggiungere un inoculo costituito da un piccolo numero di microrganismi vivi (non più di 100 UFC) alla porzione finale del diluente sterile usato per lavare il filtro.

Tabella 2.6.1.-1.- *Microrganismi di riferimento appropriati per il Saggio di fertilità ed il Saggio di applicabilità del metodo.*

Batteri aerobi	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538; CIP 4.83; 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;
Batteri anaerobi	
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404; CIP 79.3; NCTC 532; ATCC 11437; NBRC 14293;
Funghi	
<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;

Inoculazione diretta. Dopo trasferimento del contenuto del o dei recipienti da esaminare (o i fili per il catgut e gli altri fili chirurgici per uso veterinario) nel terreno di coltura, aggiungere un inoculo costituito da un piccolo numero di microrganismi vivi (non più di 100 UFC) al terreno di coltura.

In entrambi i casi utilizzare gli stessi microrganismi indicati nel paragrafo "Saggio di fertilità per aerobi, anaerobi e funghi". Effettuare un saggio di fertilità come controllo positivo. Incubare tutti i recipienti contenenti il terreno per non più di 5 giorni.

Se si ottiene una crescita dei microrganismi rapida ed evidente dopo l'incubazione, confrontabile visivamente con quella nel recipiente di controllo senza il prodotto, il prodotto non possiede attività antimicrobica nelle condizioni di saggio oppure questa attività è stata eliminata soddisfacentemente. Il saggio di sterilità può quindi essere effettuato senza ulteriori modifiche.

Se non si ottiene una crescita dei microrganismi rapida ed evidente in presenza del prodotto da esaminare, confrontabile visivamente con quella nel recipiente di controllo senza il prodotto, il prodotto possiede attività antimicrobica che non è stata soddisfacentemente eliminata nelle condizioni di saggio. Modificare le condizioni di saggio in modo tale da eliminare l'attività antimicrobica e ripetere il saggio di convalida.

Questa convalida si effettua:

a) quando il saggio di sterilità viene effettuato su di un nuovo prodotto,

b) se vi è un cambiamento nelle condizioni sperimentali di saggio.

La convalida può essere effettuata contemporaneamente con il saggio di sterilità del prodotto da esaminare.

SAGGIO DI STERILITÀ DEL PRODOTTO DA ESAMINARE

Il saggio può essere effettuato usando la tecnica della filtrazione su membrana o mediante l'inoculazione diretta dei terreni di coltura con il prodotto da esaminare. In entrambi i casi, devono essere allestiti gli appropriati controlli negativi. La tecnica della filtrazione su membrana viene utilizzata quando la natura del prodotto lo permette, cioè nel caso di preparazioni acquose filtrabili, di preparazioni alcoliche o oleose e di preparazioni miscibili con o solubili in solventi acquosi o oleosi che non hanno un effetto antimicrobico nelle condizioni di saggio.

Filtrazione su membrana. Usare filtri a membrana che abbiano una dimensione nominale dei pori non superiore a $0,45 \mu\text{m}$ per i quali è stata stabilita l'efficacia nel trattenere i microrganismi. I filtri in nitrato di cellulosa, per esempio, sono utilizzati per le soluzioni acquose, oleose e debolmente alcoliche mentre filtri in acetato di cellulosa, per esempio, per le soluzioni fortemente alcoliche. Filtri particolari possono essere necessari per alcuni prodotti, per esempio, per gli antibiotici.

La tecnica descritta di seguito presuppone che si usino membrane di circa 50 mm di diametro. Se si usano filtri di diametro differente, i volumi delle diluizioni e dei lavaggi devono essere aggiustati di conseguenza. L'apparecchio di filtrazione e la membrana sono sterilizzati mediante procedimenti appropriati. L'apparecchio è costruito in modo tale che la soluzione che deve essere esaminata possa essere introdotta e filtrata in condizioni asettiche; deve permettere, inoltre, la rimozione asettica della membrana per il trasferimento nel terreno o è adatto per effettuare l'incubazione dopo aver aggiunto il terreno di coltura nell'apparecchio stesso.

Soluzioni acquose. Se appropriato, trasferire una piccola quantità di un idoneo diluente sterile come, ad esempio, una soluzione neutra (1 g/l) di peptone di carne o di caseina a $\text{pH } 7,1 \pm 0,2$, sulla membrana dell'apparecchio e filtrare. Il diluente può contenere adatte sostanze neutralizzanti e/o sostanze inattivanti appropriate come per esempio nel caso degli antibiotici.

Trasferire il contenuto del o dei recipienti da sottoporre al saggio sulla membrana o sulle membrane dopo dilui-

zione, se necessario, al volume utilizzato nel saggio di convalida con il diluente sterile prescelto, ma in ogni caso usando quantità del prodotto da esaminare non inferiori a quelle indicate nella tabella 2.6.1.-2. Filtrare immediatamente. Se il prodotto ha attività antimicrobiche, lavare la membrana almeno tre volte filtrando, attraverso di essa, ciascuna volta, il volume del diluente sterile prescelto usato nel saggio di applicabilità del metodo. Non superare un ciclo di lavaggio che utilizzi 100 ml per 5 volte, anche se durante la convalida è stato dimostrato che tale ciclo non elimina del tutto l'attività antimicrobica. Trasferire l'intera membrana nel terreno di coltura o tagliarla asetticamente in due parti uguali trasferendo rispettivamente ciascuna metà in due terreni di coltura appropriati. Usare lo stesso volume di ciascun terreno di coltura utilizzato nel saggio di convalida. In alternativa, trasferire il terreno di coltura sulla membrana dell'apparecchio. Incubare il terreno di coltura per almeno 14 giorni.

Solidi solubili. Usare per ciascun terreno di coltura una quantità, non inferiore a quella prescritta nella tabella 2.6.1.-2, del prodotto da esaminare disciolto in un solvente appropriato come il solvente fornito con la preparazione, acqua per preparazioni iniettabili, una soluzione salina, una soluzione neutra (1 g/l) di peptone di carne o di caseina e procedere con il saggio come descritto precedentemente per le soluzioni acquose, usando una membrana adeguata al solvente scelto.

Olii e soluzioni oleose. Usare per ciascun terreno di coltura una quantità del prodotto da esaminare non inferiore a quella prescritta nella tabella 2.6.1.-2. Gli olii e le soluzioni oleose di viscosità sufficientemente bassa possono essere filtrati, senza diluizione, attraverso la membrana asciutta. Gli olii viscosi possono essere diluiti con un diluente sterile appropriato come l'isopropile miristato che ha dimostrato di non avere attività antimicrobica nelle condizioni di saggio. Lasciare penetrare per gravità l'olio nella membrana, quindi filtrare applicando gradualmente la pressione o l'aspirazione. Lavare la membrana almeno tre volte filtrando ogni volta, attraverso di essa, circa 100 ml di una soluzione neutra, sterile, appropriata, come peptone (1 g/l) di carne o di caseina contenente un agente emulsionante adeguato ad una concentrazione che si sia dimostrata appropriata nel saggio di convalida, ad esempio polisorbato 80 ad una concentrazione di 10 g/l. Trasferire la membrana o le membrane nel terreno di coltura o nei terreni di coltura o, viceversa, come descritto precedentemente per le soluzioni acquose ed incubare alle stesse temperature e per gli stessi tempi.

Tabella 2.6.1-2. - *Quantità minima di prodotto da usare per ogni terreno di coltura*

Quantità per contenitore	Quantità minima da utilizzare per ciascun terreno di coltura, salvo diversa indicazione giustificata ed autorizzata
<i>Liquidi</i> - inferiore ad 1 ml - 1-40 ml - superiore a 40 ml e non superiore a 100 ml - superiore a 100 ml <i>Antibiotici liquidi</i>	l'intero contenuto di ogni contenitore la metà del contenuto di ogni contenitore, ma non meno di 1 ml 20 ml 10 per cento del contenuto di ogni contenitore, ma non meno di 20 ml 1 ml
<i>Preparazioni insolubili, creme ed unguenti da sospendere o da emulsionare</i>	l'intero contenuto di ogni contenitore purché non inferiore a 200 mg
<i>Solidi</i> - inferiore a 50 mg - 50 mg o più, ma inferiore a 300 mg - da 300 mg a 5 g - superiore a 5 g <i>Catgut ed altri fili chirurgici per uso veterinario</i>	l'intero contenuto del contenitore la metà del contenuto di ogni contenitore, ma non meno di 50 mg 150 mg 500 mg 3 sezioni di un filo (ciascuna di 30 cm di lunghezza)

Unguenti e creme. Usare per ciascun terreno di coltura una quantità del prodotto da esaminare non inferiore a quella prescritta nella tabella 2.6.1.-2. Gli unguenti a base grassa e le emulsioni del tipo acqua - in - olio possono essere diluite all'1 per cento in isopropile miristato, come indicato in precedenza, riscaldando, se necessario, ad una temperatura non superiore a 40 °C. In casi eccezionali, può essere necessario riscaldare ad una temperatura non superiore a 44 °C. Filtrare il più rapidamente possibile e procedere come descritto per gli olii e le soluzioni oleose.

Inoculazione diretta del terreno di coltura. Trasferire la quantità di preparazione da esaminare indicata in tabella 2.6.1.-2 direttamente nel terreno di coltura in modo che il volume del prodotto non sia più del 10 per cento del volume del terreno di coltura, salvo diverse indicazioni.

Se il prodotto da esaminare ha una attività antimicrobica, effettuare il saggio dopo averla neutralizzata con sostanze neutralizzanti adatte o mediante

diluizione in una quantità sufficiente di terreno di coltura. Se è necessario usare un grande volume di prodotto, è preferibile usare un terreno di coltura concentrato preparato in modo da considerare la diluizione successiva. Se del caso, il terreno di coltura concentrato può essere aggiunto direttamente al prodotto nel suo contenitore.

Liquidi oleosi. Usare terreni di coltura ai quali siano stati aggiunti agenti emulsionanti adatti ad una concentrazione appropriata, stabilita nel saggio di applicabilità del metodo, per esempio polisorbato 80 ad una concentrazione di 10 g/l.

Unguenti e creme. Preparare una diluizione di circa 1 a 10, mediante emulsionamento con l'agente emulsionante scelto in un diluente sterile appropriato, come una soluzione neutra (1 g/l) di peptone di carne o di caseina. Trasferire il prodotto diluito in un terreno di coltura che non contiene alcun agente emulsionante.

Incubare i terreni di coltura inoculati per almeno 14 giorni. Osservare le colture più volte durante il periodo di incubazione. Agitare dolcemente ogni

giorno le colture contenenti i prodotti oleosi. Tuttavia, quando si usa il terreno di coltura al tioglicolato o un altro terreno simile per la rilevazione di microrganismi anaerobi, ridurre al minimo l'agitazione o il mescolamento per mantenere le condizioni di anaerobiosi.

Catgut ed altri fili chirurgici per uso veterinario. Usare per ciascun terreno di coltura le quantità di prodotto prescritte nella tabella 2.6.1.-2. Aprire la confezione sigillata operando in condizioni asettiche e prelevare 3 sezioni di filo per ciascun terreno di coltura. Effettuare il saggio sulle 3 sezioni del filo, ciascuna lunga 30 cm, prelevate all'inizio, al centro ed alla fine del filo. Usare fili interi provenienti da confezioni aperte all'uso. Trasferire ciascuna sezione del filo nel terreno di coltura selezionato. Usare una quantità di terreno di coltura sufficiente a coprire adeguatamente il materiale in esame (20-150 ml).

OSSERVAZIONE ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare i terreni di coltura ad intervalli durante il periodo di incubazione ed alla sua fine per evidenziare la crescita microbica. Quando il materiale sottoposto al saggio rende il terreno torbido, cosicché la presenza o l'assenza della crescita microbica non possa essere rapidamente determinata mediante esame visivo, 14 giorni dopo l'inizio dell'incubazione trasferire porzioni (ciascuna non inferiore ad 1 ml) del terreno di coltura in nuovi contenitori contenenti lo stesso terreno di coltura. Continuare l'incubazione del primo contenitore e del contenitore in cui è avvenuto il trasferimento per un periodo di tempo non inferiore a 4 giorni.

Se non si riscontra una crescita microbica, il prodotto da esaminare soddisfa al saggio per la sterilità. Se si riscontra una crescita microbica il prodotto da esaminare non soddisfa al saggio per la sterilità, a meno che non possa essere chiaramente dimostrato che il saggio non è valido per cause non correlate al prodotto da esaminare. Il saggio può essere considerato non valido solo quando si verifica una o più delle seguenti condizioni:

- i dati relativi al monitoraggio microbiologico delle apparecchiature che servono per i saggi di sterilità rivelano un'anomalia;
- l'analisi della procedura di saggio usata durante il saggio in questione rivela un'anomalia;

c) si riscontra la crescita microbica nei controlli negativi;

d) dopo la determinazione dell'identità del microrganismo isolato dal saggio, la crescita di questa o di queste specie può essere ascritta inequivocabilmente al materiale e/o alla tecnica usata durante l'esecuzione della procedura del saggio di sterilità.

Se il saggio è dichiarato non valido esso è ripetuto con lo stesso numero di unità del saggio iniziale.

Se non si riscontra una crescita microbica nella ripetizione del saggio, il prodotto esaminato soddisfa al saggio di sterilità. Se si riscontra la crescita microbica nella ripetizione del saggio, il prodotto esaminato non soddisfa al saggio di sterilità.

APPLICAZIONE DEL SAGGIO ALLE PREPARAZIONI PARENTERALI, ALLE PREPARAZIONI OFTALMICHE E AD ALTRE PREPARAZIONI NON INIETTABILI CHE DEVONO SODDISFARE AL SAGGIO DI STERILITÀ

Quando si usa la tecnica della filtrazione su membrana usare, se possibile, l'intero contenuto del recipiente o quantità non inferiori a quelle indicate nella tabella 2.6.1-2, diluendo, se necessario, a circa 100 ml con una soluzione sterile appropriata, come il peptone neutro (1 g/l) di carne o di caseina.

Quando si usa la tecnica dell'inoculazione diretta dei terreni di coltura, utilizzare le quantità indicate in tabella 2.6.1-2, se non altrimenti giustificato ed autorizzato. I saggi per la sterilità batterica e fungina sono effettuati sullo stesso campione del prodotto da esaminare. Quando il volume o la quantità in un singolo recipiente non è sufficiente per effettuare i saggi, usare il contenuto di due o più contenitori per inoculare i differenti terreni di coltura.

NUMERO MINIMO DI UNITÀ DA SOTTOPORRE A SAGGIO

Il numero minimo di campioni da sottoporre a saggio in funzione della dimensione del lotto è riportato nella Tabella 2.6.1.-3.

Le linee guida all'uso del saggio di sterilità sono riportate nel Capitolo 5.1.9.

Tabella 2.6.1.- 3.

Numero minimo di campioni da sottoporre a saggio

Numero di campioni nel lotto*	Numero minimo di campioni da sottoporre a saggio per ciascun terreno di coltura, salvo diversa indicazione giustificata ed autorizzata**
<p><i>Preparazioni parenterali</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - non più di 100 contenitori - più di 100 contenitori ma non più di 500 contenitori - più di 500 contenitori 	<ul style="list-style-type: none"> il 10 per cento dei contenitori, con un minimo di 4 10 contenitori il 2 per cento dei contenitori con un massimo di 20 (10 nel caso di preparazioni parenterali di grande volume)
<p><i>Preparazioni oftalmiche ed altre preparazioni non iniettabili</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - non più di 200 contenitori - più di 200 contenitori - se il prodotto è formulato in recipienti monodose, applicare lo schema descritto precedentemente per le preparazioni parenterali 	<ul style="list-style-type: none"> il 5 per cento dei contenitori, con un minimo di 2 10 contenitori
<p><i>Catgut e altri fili chirurgici per uso veterinario</i></p>	<p>il 2 per cento dalle confezioni con un minimo di 5, fino ad un massimo di 20.</p>
<p><i>Prodotti solidi "in bulk"</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - fino a 4 contenitori - più di 4 ma non più di 50 - più di 50 recipienti 	<ul style="list-style-type: none"> tutti i contenitori il 20 per cento dei contenitori, con un minimo di 4 il 2 per cento dei contenitori, con un minimo di 10
<p>* Se la dimensione dei lotti non è nota, utilizzare il numero massimo prescritto di unità. ** Se il contenuto di un recipiente è sufficiente per inoculare due terreni di coltura, questa colonna indica il numero di recipienti necessari per entrambi i terreni di coltura.</p>	

2.6.2. MICOBATTERI

Se il campione da esaminare può essere contaminato da microrganismi diversi dai micobatteri, trattarlo con una soluzione decontaminante appropriata come una soluzione acetilcisteina-sodio idrossido o una soluzione di sodio laurilsolfato.

Inoculare 0,2 ml del campione, in triplicato, in ciascuno di due terreni di coltura solidi appropriati (i terreni di coltura Löwenstein-Jensen e Middlebrook 7H10 sono considerati appropriati). Inoculare 0,5 ml del cam-

pione, in triplicato, in un terreno di coltura liquido appropriato. Incubare tutti i terreni di coltura a 37 °C per 56 giorni.

Stabilire la fertilità dei terreni di coltura in presenza della preparazione da esaminare mediante inoculazione di un appropriato ceppo di *Mycobacterium* come il ceppo BCG e, se necessario, usare una sostanza neutralizzante appropriata.

Se si sviluppano microrganismi contaminanti durante i primi 8 giorni di incubazione, ripetere il saggio ed effettuare contemporaneamente un saggio di sterilità batteriologica.

La preparazione soddisfa al saggio se alla fine del tempo di incubazione non si verifica la crescita di micobatteri in nessun terreno di coltura sottoposto al saggio.

2.6.7. MICOPLASMI

Quando il saggio dei micoplasmi è prescritto per una banca cellulare primaria, per una banca cellulare di lavoro, per un lotto di semenza virale o per le cellule di controllo si usa sia il metodo di coltura che il metodo di coltura con cellule indicatrici. Quando il saggio dei micoplasmi è prescritto per una raccolta virale, per una sospensione madre di vaccino o per il lotto finale (lotto) si usa il metodo di coltura. Il metodo di coltura con cellule indicatrici può essere anche usato, se necessario, per la selezione dei terreni di coltura.

Le tecniche di amplificazione dell'acido nucleico (NAT) possono essere utilizzate come alternativa per uno o entrambi i metodi dopo appropriata convalida.

METODO DI COLTURA

SCelta DEL TERRENO DI COLTURA

Effettuare il saggio usando un numero sufficiente di terreno di coltura solido e liquido per assicurare la crescita dei micoplasmi potenzialmente presenti, anche in piccolo numero, nelle condizioni di incubazione prescelte per il prodotto da esaminare. I terreni di coltura liquidi devono contenere rosso fenolo. I terreni di coltura scelti devono avere soddisfacenti proprietà nutritive almeno per i microrganismi indicati di seguito. Le proprietà nutritive di ciascun nuovo lotto del terreno di coltura sono verificate con l'appropriato microrganismo riportato nell'elenco.

Quando si effettua il saggio dei micoplasmi sul prodotto in esame, almeno una delle specie riportate di seguito deve essere utilizzata come controllo positivo:

- *Acholeplasma laidlawii* (vaccini per uso umano e per uso veterinario, quando un antibiotico è stato utilizzato durante la produzione),
- *Mycoplasma gallisepticum* (quando una sostanza di origine aviaria è stata utilizzata durante la produzione o quando il vaccino è destinato ai polli),
- *Mycoplasma hyorhinis* (vaccino per uso veterinario di origine non aviaria),
- *Mycoplasma orale* (vaccini per uso umano e per uso veterinario),
- *Mycoplasma pneumoniae* (vaccini per uso umano) o altre specie appropriate di fermentatori di D-glucosio come il *Mycoplasma fermentans*,
- *Mycoplasma synoviae* (quando una sostanza di origine aviaria è stata utilizzata durante la produzione o quando il vaccino è destinato ai polli).

I ceppi utilizzati sono ceppi selvaggi che hanno subito un numero limitato di sottocolture (non più di quindici) e sono conservati congelati o liofilizzati. Dopo la clonazione i ceppi sono identificati come appartenenti alle specie richieste mediante un metodo appropriato per confronto con le colture tipo, per es.:

<i>A.laidlawii</i>	NCTC 10116	CIP 75.27	ATCC 23206
<i>M. gallisepticum</i>	NCTC 10115	CIP 104967	ATCC 19610
<i>M. fermentans</i>	NCTC 10117	CIP 105680	ATCC 19989
<i>M. hyorhinis</i>	NCTC 10130	CIP 104968	ATCC 17981
<i>M. orale</i>	NCTC 10112	CIP 104969	ATCC 23714
<i>M. pneumoniae</i>	NCTC 10119	CIP 103766	ATCC 15531
<i>M. synoviae</i>	NCTC 10124	CIP 104970	ATCC 25204

Acholeplasma laidlawii PBR, *Mycoplasma fermentans* PBR, *Mycoplasma hyorhinis* PBR, *Mycoplasma orale* PBR e *Mycoplasma synoviae* PBR sono appropriati per l'uso come ceppi di riferimento a basso numero di passaggi.

CONDIZIONI DI INCUBAZIONE

Incubare i terreni di coltura liquidi in recipienti ermeticamente chiusi a 35-38 °C. Incubare i terreni di coltura solidi in condizioni microaerofile (in atmosfera di azoto contenente il 5-10 per cento di anidride carbonica e umidità sufficiente a prevenire l'essiccamento della superficie dell'agar) a 35-38 °C.

PROPRIETÀ NUTRITIVE

Effettuare il saggio delle proprietà nutritive per ciascun nuovo terreno di coltura. Inoculare i terreni di coltura prescelti con il microrganismo di riferimento appropriato; usare non più di 100 unità formanti colonia (UFC) per una piastra di 60 mm contenente 9 ml di ter-

reno solido e per 100 ml di contenitore di terreno liquido; usare una piastra e un contenitore diverso per ciascuna specie di microrganismo. Incubare il terreno di coltura e preparare delle sottocolture da 0,2 ml di terreno liquido in terreno solido ad intervalli di tempo specificati (vedere di seguito Saggio per i micoplasmi nel prodotto in esame). Il terreno di coltura solido soddisfa al saggio se si osserva una crescita adeguata per ciascun microrganismo in esame (la crescita ottenuta non differisce di più di un fattore 5 dal valore calcolato rispetto all'inoculo). Il terreno liquido soddisfa il saggio se la crescita sulle piastre di agar preparate come sottocoltura dal brodo si riscontra in almeno una sottocoltura per ciascun microrganismo in esame.

SOSTANZE INIBITRICI

Il saggio per le sostanze inibitrici è effettuato una volta per un dato prodotto e ripetuto ogni volta che vi è un cambiamento nel metodo di produzione che possa influenzare la rivelazione dei micoplasmi.

Per dimostrare l'assenza di sostanze inibitrici, effettuare il saggio delle proprietà nutritive in presenza ed in assenza del prodotto da esaminare. Se la crescita del microrganismo in esame che si verifica in più di una sottocoltura è notevolmente inferiore a quella riscontrata in assenza del prodotto da esaminare o se la piastra inocolata direttamente con il prodotto in esame ha un numero di colonie inferiore a 1/5 di quelle inoculate senza il prodotto in esame, le sostanze inibitrici sono presenti e devono essere neutralizzate o il loro effetto deve essere contrastato, per esempio mediante passaggio in substrati che non contengono sostanze inibitrici o mediante diluizione prima del saggio in un volume di terreno di coltura più grande. Se si utilizza il metodo di diluizione, possono essere utilizzati volumi di terreno più grandi o il volume di inoculo può essere diviso in alcuni contenitori da 100 ml. Verificare l'efficacia della neutralizzazione o di un altro processo ripetendo il saggio delle sostanze inibitrici dopo la neutralizzazione.

SAGGIO DEI MICOPLASMI NEL PRODOTTO DA ESAMINARE

Inoculare 10 ml del prodotto in esame per 100 ml di ciascun terreno liquido. Se si riscontra un cambiamento significativo di pH con l'aggiunta del prodotto in esame, il terreno di coltura liquido è riportato al valore di pH iniziale mediante l'aggiunta di sodio idrossido o di acido cloridrico. Inoculare 0,2 ml del prodotto in esame in ciascuna piastra di terreno di coltura solido. Incubare i terreni di coltura liquidi per 20-21 giorni.

Incubare i terreni di coltura solidi per almeno 14 giorni ad eccezione di quelli corrispondenti a sottocolture a 20-21 giorni che sono incubati per 7 giorni. Contemporaneamente incubare una porzione di 100 ml di ciascun terreno liquido e piastre di agar non inoculato come controllo negativo. Ai giorni 2-4 dopo l'inoculazione effettuare una sottocoltura di ciascun terreno liquido mediante inoculazione di 0,2 ml in almeno una piastra di ciascun terreno di coltura solido. Ripetere la procedura tra il sesto e l'ottavo giorno, di nuovo tra il tredicesimo e il quindicesimo giorno poi tra il diciannovesimo e il ventunesimo giorno del saggio. Osservare i terreni di coltura liquidi ogni 2 o 3 giorni e, se si verifica un qualsiasi cambiamento di colore, allestire una sottocoltura. Se un terreno di coltura liquido mostra segni di contaminazione batterica o fungina, il saggio non è valido. Il saggio è valido se può essere letta almeno una piastra per ciascun terreno di coltura e per ciascun giorno di inoculazione. Includere nel saggio controlli positivi preparati inoculando non più di 100 unità formanti colonia di almeno un microrganismo di riferimento in terreno di coltura solido e liquido. Se il saggio dei micoplasmi è effettuato regolarmente si raccomanda se possibile di utilizzare i microrganismi in esame a rotazione regolare. I microrganismi utilizzati sono quelli riportati in Scelta dei terreni di coltura.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Alla fine del prescritto periodo di incubazione, esaminare, al microscopio tutti i terreni di coltura solidi inoculati per verificare la presenza di colonie di micoplasmi. Il prodotto soddisfa al saggio se non si verifica la crescita di tipiche colonie di micoplasmi. Il prodotto non soddisfa al saggio se la crescita delle tipiche colonie di micoplasmi si verifica in un terreno solido. Il saggio non è valido se uno o più controlli positivi non presentano crescita di micoplasmi in almeno una piastra di sottocoltura. Il saggio non è valido se uno o più controlli negativi mostra crescita di micoplasmi. Se si osservano colonie sospette può essere utilizzato un appropriato metodo convalidato per determinare se esse siano dovute ai micoplasmi.

La sezione riportata di seguito è pubblicata per informazione

TERRENI DI COLTURA RACCOMANDATI PER IL METODO DI COLTURA

Si raccomandano i terreni di coltura seguenti. Si possono usare altri terreni di coltura purchè sia stata dimo-

strata la loro capacità di favorire la crescita dei micoplasmi su ciascun lotto in presenza e in assenza del prodotto da esaminare.

TERRENO DI HAYFLICK (RACCOMANDATO PER LA RIVELAZIONE GENERALE DEI MICOPLASMI)

Terreno liquido

Brodo di infusione di cuore di bue (1)	90,0 ml
Siero di cavallo (non riscaldato)	20,0 ml
Estratto di lievito (250 g/l)	10,0 ml
Rosso fenolo (soluzione 0,6 g/l)	5,0 ml
Penicillina (20000 U.I. per millilitro)	0,25 ml
Acido desossiribonucleico (2 g/l soluzione)	1,2 ml
Aggiustare il pH a 7,8.	

Terreno solido

Preparare come descritto precedentemente sostituendo il brodo di infusione di cuore di bue con agar di infusione di cuore di bue contenente 15 g/l di agar.

TERRENO DI FREY (RACCOMANDATO PER RIVELARE IL MICOPLASMA SYNOVIAE)

Terreno liquido

Brodo di infusione di cuore di bue (1)	90,0 ml
Vitamine essenziali (2)	0,025 ml
Glucosio monoidrato (soluzione 500 g/l)	2,0 ml
Siero di suino (inattivato a 56 °C per 30 min)	12,0 ml
β -Nicotinammide adenina dinucleotide (soluzione 10 g/l)	1,0 ml
Cisteina cloridrato (soluzione 10 g/l)	1,0 ml
Rosso fenolo (soluzione 0,6 g/l)	5,0 ml
Penicillina (20000 U.I. per millilitro)	0,25 ml

Mescolare le soluzioni di β -nicotinammide adenina dinucleotide e cisteina cloridrato e dopo 10 min aggiungere alle altre sostanze. Aggiustare il pH a 7,8.

Terreno di coltura solido

Brodo di infusione di cuore di bue (1)	90,0 ml
Agar, purificato (3)	1,4 g

Aggiustare il pH a 7,8, sterilizzare in autoclave e dopo aggiungere:

Vitamine essenziali (2)	0,025 ml
Glucosio monoidrato (soluzione 500 g/l)	2,0 ml
Siero di suino (non riscaldato)	12,0 ml
β -Nicotinammide adenina dinucleotide (soluzione 10 g/l)	1,0 ml
Cisteina cloridrato (soluzione 10 g/l)	1,0 ml
Rosso fenolo (soluzione 0,6 g/l)	5,0 ml
Penicillina (20000 U.I. per millilitro)	0,25 ml

TERRENO DI FRIIS (RACCOMANDATO PER RIVELARE I MICRORGANISMI NON AVIARI)

Terreno di coltura liquido

Soluzione salina bilanciata di Hanks (modificata) (4)	800 ml
Acqua distillata	67 ml
Infusione cuore-cervello (5)	135 ml
Brodo PPLO (6)	248 ml
Estratto di lievito (170 g/l)	60 ml
Bacitracina	250 mg
Meticillina	250 mg
Rosso fenolo (5 g/l)	4,5 ml
Siero di cavallo	165 ml
Siero di suino	165 ml

Aggiustare il pH a 7,4 - 7,45.

Terreno di coltura solido

Soluzione salina bilanciata di Hanks (modificata) (4)	200 ml
DEAE-destrano	200 mg
Agar, purificato (3)	15,65 g

Mescolare bene e sterilizzare in autoclave. Raffreddare a 100 °C. Aggiungere a 1740 ml di terreno di coltura liquido descritto precedentemente.

(1) *Brodo di infusione di cuore di bue*

Cuore di bue (per la preparazione dell'infusione)	500 g
Peptone	10 g
Sodio cloruro	5 g
Acqua distillata	fino a 1000 ml

Sterilizzare in autoclave.

(2) *Vitamine essenziali*

Biotina	100 mg
Calcio pantotenato	100 mg
Colina cloruro	100 mg
Acido folico	100 mg
<i>i</i> -Inositolo	200 mg
Nicotinammide	100 mg
Piridossale cloridrato	100 mg
Riboflavina	10 mg
Tiamina cloridrato	100 mg
Acqua distillata	fino a 1000 ml

(3) *Agar, purificato*

Agar altamente purificato destinato all'uso in microbiologia e in immunologia, preparato mediante una procedura a scambio ionico che fornisce un prodotto di purezza, limpidezza e potere gelificante superiori. Esso contiene circa:

Acqua	12,2 per cento
Ceneri	1,5 per cento
Ceneri insolubili negli acidi	0,2 per cento

Cloro	0
Fosfato (calcolato come P ₂ O ₅)	0,3 per cento
Azoto totale	0,3 per cento
Rame	8 ppm
Ferro	170 ppm
Calcio	0,28 per cento
Magnesio	0,32 per cento

(4) *Soluzione salina bilanciata di Hanks (modificata)*

Sodio cloruro	6,4 g
Potassio cloruro	0,32 g
Magnesio solfato eptaidrato	0,08 g
Magnesio cloruro esaidrato	0,08 g
Calcio cloruro anidro	0,112 g
Sodio fosfato dibasico diidrato	0,0596 g
Potassio fosfato monobasico, anidro	0,048 g
Acqua distillata	fino a 800 ml

(5) *Infusione cuore-cervello*

Infusione di cervello di vitello	200 g
Infusione di cuore di bue	250 g
Peptone proteosio	10 g
Glucosio monoidrato	2 g
Sodio cloruro	5 g
Sodio fosfato dibasico, anidro	2,5 g
Acqua distillata	fino a 1000 ml

(6) *Brodo PPLO*

Infusione di cuore di bue	50 g
Peptone	10 g
Sodio cloruro	5 g
Acqua distillata	fino a 1000 ml

METODO DELLE COLTURE CELLULARI INDICATRICI

Le colture cellulari sono colorate con un colorante fluorescente che si lega al DNA. I micoplasm

Se per le sospensioni virali l'interpretazione dei risultati è influenzata da marcati effetti citopatici, il virus può essere neutralizzato usando un antisiero specifico che non ha effetti inibitori specifici sui micoplasm

VERIFICA DEL SUBSTRATO

Usare come substrato una coltura cellulare Vero (per esempio, la linea cellulare di produzione) oppure un'altra coltura cellulare equivalente in efficacia per la rivelazione dei micoplasmi. Effettuare un controllo preliminare dell'efficacia applicando la procedura descritta di seguito usando un inoculo di non più di 100 UFC o un numero di microrganismi equivalenti a 100 UFC di un appropriato ceppo di riferimento di *M. hyorhinitis* e *M. orale*. I ceppi riportati di seguito si sono rivelati idonei:

M. hyorhinitis ATCC 29052

M. orale NCTC 10112 CIP 104969 ATCC 23714

Le cellule sono appropriate se entrambi i ceppi sono rivelati.

Le cellule indicatrici devono essere sottoposte a sottocoltura senza l'aggiunta di antibiotico prima dell'uso nel saggio.

METODO DI SAGGIO

1. Allestire la coltura di cellule indicatrici con una densità regolare (per esempio 2×10^4 - 2×10^5 cellule per millilitro, 4×10^3 - $2,5 \times 10^4$ cellule/cm²) che arriverà alla confluenza in 3 giorni di crescita. Inoculare 1 ml del prodotto in esame in un recipiente di coltura cellulare ed incubare a 35-38 °C.
2. Dopo almeno 3 giorni di incubazione, quando le cellule sono cresciute alla confluenza, effettuare una sottocoltura su vetrino coprioggetto in recipienti appropriati oppure su un'altra superficie appropriata alla procedura di saggio. Inoculare le cellule a bassa densità in modo che raggiungano il 50 per cento di confluenza in 3-5 giorni di incubazione. La confluenza completa impedisce la visualizzazione dei micoplasmi dopo colorazione e deve essere evitata.
3. Eliminare il terreno di coltura e lavare le cellule indicatrici con *tampone fosfato soluzione salina a pH 7,4 R* e poi aggiungere un'appropriata soluzione fissante (quando per la colorazione è utilizzata la *bisbenzimmide R*, è appropriata una miscela preparata di recente utilizzando 1 volume di *acido acetico glaciale R* e 3 volumi di *metanolo R*).
4. Eliminare la soluzione fissante e lavare le cellule con *acqua R* sterile. Essiccare le lastre completamente se esse sono state colorate per 1 h o più (è necessaria particolare attenzione per la colorazione di lastre dopo l'essiccamento per evitare la formazione di artefatti).

5. Aggiungere un'appropriata sostanza colorante del DNA e lasciare a riposo per un periodo di tempo appropriato (*bisbenzimmide soluzione di lavoro R* e un tempo di riposo di 10 min sono appropriati).
6. Rimuovere il colorante e lavare il monostrato con *acqua R*.
7. Fissare ciascun vetrino coprioggetto, se del caso (una miscela di volumi uguali di *glicerolo R* e *tampone citrato-fosfato soluzione a pH 5,5 R* è appropriata). Esaminare mediante fluorescenza (per la *bisbenzimmide* sono appropriati un filtro di eccitazione a 330 nm/380 nm ed un filtro barriera di LP 440 nm) con ingrandimento uguale o superiore a 400×.
8. Confrontare l'aspetto microscopico delle colture in esame con quelle dei controlli negativi e positivi, esaminando per evidenziare la fluorescenza extranucleare. I micoplasmi formano dei puntini o dei filamenti sopra il citoplasma delle cellule indicatrici e in alcuni casi anche negli spazi intercellulari. Esaminare i campi microscopici multipli in accordo con il protocollo stabilito durante la convalida.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il prodotto in esame soddisfa il saggio se la fluorescenza tipica dei micoplasmi non è presente. Il saggio non è valido se i controlli positivi non presentano la fluorescenza tipica dei micoplasmi. Il saggio non è valido se i controlli negativi presentano la fluorescenza tipica dei micoplasmi.

TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE DEGLI ACIDI NUCLEICI

Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (NAT) (2.6.21) possono essere utilizzate per la rivelazione dei micoplasmi mediante amplificazione degli acidi nucleici estratti da un campione in esame con dei *primers* specifici che rivelano la presenza di acido nucleico bersaglio. Queste tecniche forniscono un'indicazione della presenza di una particolare sequenza di acido nucleico e non necessariamente della presenza di microrganismi vitali. Sono disponibili differenti tecniche. Questo capitolo generale non prescrive un particolare metodo per il saggio. La procedura applicata deve essere convalidata come prescritto, tenendo conto delle linee guida presentate alla fine di questa sezione. Quando è utilizzato un kit disponibile in commercio, alcuni elementi della convalida possono essere effet-

tuati dal produttore e l'informazione fornita all'utilizzatore, ma si deve ricordare che le informazioni complete sui primers possono non essere disponibili e che la produzione del kit può essere modificata o discontinua.

Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici sono utilizzate quando sono prescritte in una monografia. Esse possono essere utilizzate anche al posto del metodo di coltura e del metodo delle cellule indicatrici dopo appropriata convalida.

L'*amplificazione diretta*, *NAT diretta*, può essere applicata in presenza di materiale citotossico e quando è necessario un metodo rapido.

Amplificazione NAT dopo arricchimento in coltura cellulare: consiste nel coltivare insieme, per un periodo di tempo appropriato il campione in esame e un appropriato substrato cellulare (come indicato nel metodo delle colture cellulari indicatrici); gli acidi nucleici sono successivamente estratti dalle cellule e dal soprannatante ed utilizzati per la rivelazione mediante l'amplificazione degli acidi nucleici.

CONVALIDA

L'utilizzo di standard di riferimento è richiesto in diverse fasi della convalida e per i controlli durante l'applicazione di routine del saggio. I materiali di riferimento possono essere costituiti da micoplasmi o da acidi nucleici.

Per la convalida del limite di rivelazione, le specie riportate di seguito rappresentano una selezione ottimale in termini di possibilità di presenza come contaminanti e relazione filogenetica:

- *A. laidlawii*,
- *M. fermentans*,
- *M. hyorhinae* (in caso di arricchimento in coltura cellulare è incluso un ceppo difficile come il ceppo ATCC 29052),
- *M. orale*.
- *M. pneumoniae* o *M. gallisepticum*,
- *M. synoviae* (in caso di utilizzo di materiale aviario o di esposizione a questo tipo di materiale durante la produzione),
- *Mycoplasma arginini*,
- *Spiroplasma citri* (in caso sia utilizzato o vi sia esposizione a materiale proveniente da insetti o da piante durante la produzione).

La dimostrazione della specificità richiede l'impiego di un'appropriata gamma di specie batteriche diverse dai micoplasmi. I generi batterici che hanno una

stretta relazione filogenetica con i micoplasmi sono più appropriati per questa convalida; questi sono in particolare i generi *Clostridium*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*.

Studi di comparabilità per l'uso delle tecniche di amplificazione come metodo alternativo. Per ciascuna specie di micoplasma in esame si deve dimostrare che:

- il sistema di amplificazione permette di rivelare 10 UFC/ml, se il metodo alternativo sostituisce il metodo di coltura;
- il sistema di amplificazione permette di rivelare 100 UFC/ml se il metodo alternativo sostituisce il metodo delle colture cellulari indicatrici;

o un limite equivalente di rivelazione in termini di numero di copie di acido nucleico dei micoplasmi nel campione in esame (utilizzando appropriati standard di riferimento di acido nucleico dei micoplasmi).

CONTROLLI

Controlli interni. I controlli interni sono necessari per la verifica di routine dell'assenza di inibizione. Il controllo interno può essere una sequenza nucleotidica contenente il sito di legame del primer oppure può essere utilizzata un'altra appropriata sequenza. Il controllo interno è aggiunto al materiale in esame preferibilmente prima dell'isolamento dell'acido nucleico e ha di conseguenza un ruolo polivalente nel controllo del processo (estrazione, trascrizione inversa, amplificazione, rivelazione).

Controlli esterni. Il controllo positivo esterno contiene un numero definito di copie di sequenze bersaglio oppure UFC di una o più specie appropriate di micoplasmi scelte tra quelle utilizzate per convalidare le condizioni del saggio. Uno dei controlli positivi è posto vicino il punto di *cut-off* positivo (soglia di risposta positiva) per dimostrare che è stata raggiunta la sensibilità attesa. Il controllo esterno negativo non contiene sequenze bersaglio e non è necessariamente costituito dalla stessa matrice del prodotto in esame.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I primers utilizzati possono anche amplificare acidi nucleici batterici di origine non micoplasmica con conseguente ottenimento di risultati falsamente positivi. Al momento della convalida, se necessario, sono stabilite delle procedure per la conferma dei risultati positivi.

La sezione riportata di seguito è pubblicata per informazione

LINEE GUIDA PER LA CONVALIDA DELLE TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE DEGLI ACIDI NUCLEICI PER LA RIVELAZIONE DEI MICOPLASMI

1. SCOPO

Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (NAT) sono dei saggi qualitativi e quantitativi per evidenziare la presenza di acidi nucleici. Come saggi qualitativi possono essere utilizzati per rivelare la contaminazione da micoplasmi di diversi campioni come i vaccini e i substrati cellulari e possono essere considerati come saggi limite.

Questa linea guida descrive i metodi per convalidare le procedure analitiche di amplificazione degli acidi nucleici di tipo qualitativo destinate a rivelare la contaminazione dei micoplasmi. Esse inoltre possono essere applicate anche alle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici in tempo reale utilizzate come saggio limite per il controllo dei contaminanti.

Le due caratteristiche considerate come le più importanti per la convalida della procedura analitica sono la specificità e il limite di rivelazione. Inoltre dovrebbe essere valutata la robustezza della procedura analitica.

Per lo scopo di questo documento, una procedura analitica è definita come la procedura completa dall'estrazione dell'acido nucleico fino alla rivelazione dei prodotti di amplificazione.

Quando la procedura analitica è totalmente o parzialmente applicata con l'ausilio di kit disponibili in commercio, gli aspetti di convalida documentati già presi in considerazione dal fabbricante possono sostituire la convalida da effettuare dall'utilizzatore. Tuttavia la performance del kit rispetto all'uso previsto deve essere dimostrata dall'utilizzatore (per es. limite di rivelazione, robustezza, rivelazione crociata di altre classi di batteri).

Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici possono essere utilizzate come:

- un saggio complementare (per es. per le sospensioni virali citotossiche) o a fini di controllo in corso di produzione;
- un metodo alternativo in sostituzione di un metodo ufficiale (il metodo delle colture cellulari indicatrici oppure il metodo di coltura).

Questa linea guida manterrà separati questi due obiettivi presentando per prima una linea guida per la convalida delle stesse tecniche di amplificazione degli acidi nucleici e per seconda una linea guida per uno studio di comparabilità tra le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici e i metodi ufficiali.

2. LINEA GUIDA PER LA CONVALIDA DELLE TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE DEGLI ACIDI NUCLEICI PER LA RIVELAZIONE DEI MICOPLASMI

Tre parametri devono essere valutati: la specificità, il limite di rivelazione e la robustezza.

2-1. **Specificità.** La specificità è la capacità di valutare in maniera univoca l'acido nucleico ricercato in presenza di componenti che si può presumere siano presenti.

La specificità delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici dipende dalla scelta dei primers, dalla scelta delle sonde utilizzate per l'analisi del prodotto finale e dal rigore delle condizioni operative (per entrambe le fasi di amplificazione e di rivelazione).

La capacità delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici a rivelare un'ampia gamma di specie di micoplasmi dipenderà dalla scelta dei primers, delle sonde e dei parametri del metodo. Questa capacità deve essere dimostrata utilizzando collezioni di riferimento caratterizzate (per es. i ceppi di riferimento forniti dall'EDQM). Poiché i sistemi di amplificazione degli acidi nucleici si basano generalmente su una miscela di primers, non è raccomandata l'analisi teorica dei primers e delle sonde per confronto con le basi di dati perché l'interpretazione dei risultati può essere abbastanza complessa e può non riflettere i risultati sperimentali.

Inoltre, poiché è probabile che i primers rivelino altre specie batteriche, la rivelazione crociata potenziale dovrà essere documentata negli studi di convalida. I generi batterici con relazione filogenetica stretta con i micoplasmi, come i batteri gram-positivi sono i più appropriati per questa convalida; questi comprendono *Clostridium*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*. Questa lista non è però esaustiva e le specie da esaminare dipenderanno dalla capacità teorica (basata sulle sequenze primers/sonde) del sistema di amplificazione degli acidi nucleici di rivelare tali altre specie.

Sulla base dei risultati di questa convalida della specificità, se si identifica una lacuna della specificità del metodo (come la rivelazione di acidi nucleici batterici

non micoplasmici) deve essere proposta una strategia appropriata nello studio di convalida per permettere l'interpretazione dei risultati positivi nella routine. Per esempio potrà essere effettuato un secondo saggio utilizzando un metodo alternativo che non abbia questa lacuna di specificità o un metodo ufficiale.

2-2. Limite di rivelazione. Il limite di rivelazione di una singola procedura analitica è la più piccola quantità di acido nucleico bersaglio rivelata in un campione ma non necessariamente quantificata come un valore assoluto.

Per stabilire il limite di rivelazione deve essere determinata una soglia di risposta positiva per la procedura analitica utilizzando le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici. La soglia di risposta (come definita nel capitolo generale 2.6.21) è il numero minimo di copie di sequenze bersaglio per volume di campione che può essere rivelato nel 95 per cento dei saggi. Questa soglia di risposta positiva è influenzata dalla distribuzione dei genomi micoplasmici nei singoli campioni sottoposti al saggio e da fattori come l'efficienza enzimatica, e può consentire di ottenere differenti valori di soglia al 95 per cento per i singoli saggi analitici.

Per determinare la soglia di risposta positiva deve essere esaminata una serie di diluizioni di ceppi di lavoro interni caratterizzati e calibrati (in UFC o in copie di acido nucleico) o di standard dell'EDQM in giorni differenti per esaminare le variazioni tra i saggi.

Per la convalida del limite di rivelazione, le specie riportate di seguito costituiscono una selezione ottimale in termini di presenza come contaminanti e di relazione filogenetica:

- *A. laidlawii*;
- *M. fermentans*;
- *M. orale*;
- *M. hyorhinitis*;
- *M. pneumoniae* o *M. gallisepticum*;
- *M. synoviae* (in caso di utilizzo di materiale aviario o di esposizione a questo tipo di materiale durante la produzione);
- *M. arginini*;
- *S. citri* (in caso di utilizzazione oppure di esposizione a materiale proveniente da insetti o da piante durante la produzione).

Per ciascun ceppo devono essere controllate almeno 3 serie indipendenti di diluizioni 1 a 10 con un numero sufficiente di duplicati di ciascuna diluizione in modo

da ottenere un numero totale di 24 risultati di saggio per ciascuna diluizione e permettere un'analisi statistica dei risultati.

A titolo di esempio, un laboratorio può esaminare 3 serie di diluizioni in giorni differenti con 8 duplicati di ciascuna diluizione, 4 serie di diluizioni in giorni differenti con 6 duplicati per ciascuna diluizione, oppure 6 serie di diluizioni in giorni differenti con 4 duplicati di ciascuna diluizione. Inoltre, per mantenere il numero delle diluizioni ad un livello gestibile, dovrebbe essere effettuato un saggio preliminare in modo da ottenere un valore preliminare per la soglia di risposta positiva (ossia la diluizione più elevata che dà un segnale positivo). L'intervallo di diluizioni può essere dunque scelto intorno al valore della soglia di risposta, determinato preliminarmente. La concentrazione dei micoplasmici (UFC o copie) che può essere rivelata nel 95 per cento dei saggi può quindi essere calcolata utilizzando un appropriato metodo statistico.

Questi risultati possono anche essere utilizzati per stabilire la variabilità della procedura analitica.

2-3. Robustezza. La robustezza della procedura analitica misura la sua capacità a non essere influenzata da deboli ma deliberate modifiche dei parametri operativi, e fornisce un'indicazione della realizzabilità della procedura nelle normali condizioni di applicazione.

La valutazione della robustezza è un aspetto da considerare nella fase di sviluppo. Essa permette di stabilire la realizzabilità della procedura analitica rispetto a variazioni deliberate dei parametri operativi. Nelle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici piccole variazioni di alcuni parametri possono avere un'importanza cruciale. Comunque è possibile dimostrare la robustezza del metodo durante il suo sviluppo quando si studia l'influenza di piccole variazioni della concentrazione dei reattivi (per es. $MgCl_2$, primers o desossiribonucleotidi). Si possono anche valutare le modifiche dei kit di estrazione o delle procedure di estrazione così come dei differenti tipi di apparecchi per PCR).

Infine la valutazione della robustezza del metodo può essere effettuata attraverso studi collaborativi.

3. LINEA GUIDA PER LO STUDIO DELLA COMPARABILITÀ

Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici possono essere utilizzate in sostituzione dei metodi ufficiali (metodo delle colture cellulari indicatrici e/o metodo di coltura). In questo caso si deve effettuare uno studio

di comparabilità. Questo studio di comparabilità deve includere principalmente un confronto dei limiti di rivelazione del metodo alternativo e del metodo ufficiale. Inoltre dovrebbe essere presa in considerazione la specificità (gamma di micoplasmi rivelati, possibili falsi positivi).

Per quanto riguarda il limite di rivelazione, i criteri di accettazione sono definiti come segue:

- se il metodo alternativo è proposto in sostituzione del metodo di coltura, si deve dimostrare che il sistema delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici permette di rivelare 10 UFC/ml per ciascuna specie di micoplasmi in esame descritta nel paragrafo 2-2;
- se il metodo alternativo è proposto in sostituzione del metodo di coltura delle cellule indicatrici, si deve dimostrare che il sistema delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici permette di rivelare 100 UFC/ml per ciascuna specie di micoplasma in esame descritta nel paragrafo 2-2.

In entrambi i casi, possono essere utilizzati standard appropriati tarati in funzione del numero di copie di acido nucleico e del numero di UFC per dimostrare che questi criteri di accettazione sono raggiunti. Si deve stabilire preferibilmente la relazione tra le UFC e le copie di acido nucleico per le preparazioni di riferimento per confrontare la performance del metodo alternativo delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici con la performance dei metodi ufficiali.

Questo studio di comparabilità deve essere condotto seguendo una delle due strategie seguenti:

- effettuare il metodo alternativo di amplificazione degli acidi nucleici in parallelo con il(i) metodo(i) ufficiale(i) per valutare contemporaneamente il limite di rivelazione di entrambi i metodi usando lo stesso campione di ceppi calibrati;
- confrontare l'applicazione del metodo alternativo delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici con i dati ottenuti precedentemente durante la convalida del metodo ufficiale. In questo caso la taratura degli standards utilizzati e la loro stabilità per entrambe le convalide dovrà essere documentata dettagliatamente.

I rapporti degli studi di stabilità devono descrivere tutti gli elementi di convalida descritti nella sezione 2 (specificità, limite di rivelazione, variabilità e anche robustezza) per poter valutare l'insieme dei vantaggi e degli

svantaggi del metodo alternativo delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici rispetto ai metodi ufficiali.

2.6.8. PIROGENI

Il saggio consiste nel misurare l'aumento della temperatura corporea causato nel coniglio dall'iniezione endovenosa di una soluzione sterile della sostanza da esaminare.

Selezione degli animali. Usare conigli adulti sani di entrambi i sessi e di massa non inferiore a 1,5 kg, alimentati con una dieta completa e bilanciata non contenente antibiotici e che non hanno subito una diminuzione della massa corporea nella settimana precedente il saggio. Un coniglio non è usato in un saggio dei pirogeni:

- a) se è stato usato in un saggio dei pirogeni risultato negativo nei tre giorni precedenti il saggio, o
- b) se è stato usato nelle tre settimane precedenti in un saggio dei pirogeni nei quali la sostanza da esaminare non ha superato il saggio.

Stabulario degli animali. Mantenere i conigli soli in un'area tranquilla con un'appropriata temperatura uniforme. Privare i conigli del cibo durante la notte e fino a quando il saggio è completato; privarli dell'acqua durante il saggio. Effettuare il saggio in una stanza tranquilla dove non esiste il rischio di perturbazioni che potrebbero eccitare gli animali e nella quale la temperatura ambiente non si differenzia di più di 3 °C da quella dello stabulario o da quella alla quale i conigli sono stati mantenuti per almeno 18 h prima del saggio.

Materiali. Vetreria, siringhe ed aghi. Lavare accuratamente tutta la vetreria, le siringhe e gli aghi con acqua per preparazioni iniettabili e scaldare in una stufa ad aria calda a 250 °C per 30 min o a 200 °C per 1 h.

Dispositivi di fissazione. I dispositivi di fissazione per conigli, la cui temperatura è misurata mediante un apparecchio elettrico, sono costruiti in modo tale che gli animali sono trattenuti solo mediante un collare convenientemente morbido; il resto del corpo rimane relativamente libero in modo che il coniglio può mettersi in una posizione normale. Essi non sono trattenuti con cinghie o con altri metodi simili che potrebbero causare danno all'animale. Gli animali sono introdotti in questi dispositivi almeno 1 h prima della prima registrazione della temperatura e vi rimangono per tutto il saggio.

Termometri. Usare un termometro o un dispositivo elettrico che indica la temperatura con una precisione di

0,1 °C ed inserirlo nel retto del coniglio ad una profondità di circa 5 cm. La profondità di inserimento è costante per ogni coniglio in uno stesso saggio. Quando è usato un dispositivo elettrico esso può essere lasciato *in situ* durante il saggio.

Saggio preliminare. Dopo la selezione degli animali, da uno a tre giorni prima del saggio del prodotto da esaminare, trattare gli animali che non sono stati usati durante le precedenti 2 settimane, con una iniezione endovenosa di 10 ml per chilogrammo di massa corporea di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* esente da pirogeni riscaldata a 38,5 °C. Registrare la temperatura degli animali iniziando almeno 90 min prima dell'iniezione e continuando per 3 h dopo l'iniezione della soluzione. Gli animali che presentano una variazione della temperatura superiore a 0,6 °C non sono usati nel saggio principale.

Saggio principale. Effettuare il saggio usando un gruppo di tre conigli.

Preparazione ed iniezione del prodotto. Scaldare il liquido da esaminare approssimativamente a 38,5 °C prima dell'iniezione. Il prodotto da esaminare può essere disciolto in, o diluito con, una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* esente da pirogeni o con un altro liquido prescritto. Iniettare lentamente la soluzione nella vena marginale dell'orecchio di ciascun coniglio in un intervallo non superiore a 4 min, salvo indicazione diversa nella monografia. La quantità di prodotto da iniettare varia in funzione del prodotto da esaminare ed è prescritta nella monografia. Il volume iniettato non è inferiore a 0,5 ml per chilogrammo e non è superiore a 10 ml per chilogrammo di massa corporea.

Determinazione della temperatura iniziale e della temperatura massima. La "temperatura iniziale" di ciascun coniglio è la media di due letture di temperatura registrate per quel coniglio in un intervallo di 30-40 min immediatamente precedente l'iniezione del prodotto da esaminare. La "temperatura massima" di ciascun coniglio è la temperatura più alta registrata per quel coniglio nelle 3 h successive l'iniezione. Registrare la temperatura di ciascun coniglio ad intervalli non superiori a 30 min, iniziando almeno 90 min prima dell'iniezione del prodotto da esaminare e continuando nelle 3 h successive l'iniezione. La differenza tra la temperatura massima e la temperatura iniziale di ciascun coniglio rappresenta la sua risposta. Quando questa differenza è negativa, il risultato è considerato come risposta zero.

I conigli che presentano, nella determinazione della temperatura iniziale, una variazione della temperatura superiore a 0,2 °C tra due letture successive sono esclusi dal saggio. In un saggio sono usati solo conigli che

hanno una temperatura iniziale che non differisce per più di 1 °C da quella degli altri. Tutti i conigli che hanno una temperatura iniziale superiore a 39,8 °C o inferiore a 38,0 °C sono esclusi dal saggio.

Interpretazione di risultati. Avendo effettuato il primo saggio su un gruppo di tre conigli, se necessario ripetere su ulteriori gruppi di tre conigli fino ad un totale di quattro gruppi. Se la somma delle risposte del primo gruppo non supera i valori riportati nella seconda colonna della Tabella 2.6.8.-1, il prodotto soddisfa al saggio. Se la somma delle risposte supera i valori riportati nella terza colonna della tabella, ripetere il saggio come indicato precedentemente. Se la somma delle risposte supera i valori riportati nella terza colonna della tabella, il prodotto non soddisfa al saggio.

Tabella 2.6.8.-1.

Numero di conigli	Il prodotto soddisfa al saggio se la somma delle risposte non supera	Il prodotto non soddisfa al saggio se la somma delle risposte supera
3	1,15 °C	2,65 °C
6	2,80 °C	4,30 °C
9	4,45 °C	5,95 °C
12	6,60 °C	6,60 °C

I conigli usati in un saggio dei pirogeni nel quale l'aumento medio della temperatura supera 1,2 °C sono esclusi definitivamente.

2.6.9. TOSSICITÀ ANORMALE

SAGGIO GENERALE

Iniettare per via intravenosa a ciascuno di 5 topi sani, di 17-24 g, la quantità della sostanza da esaminare prescritta nella monografia, disciolta in 0,5 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* o in una soluzione sterile (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Iniettare la soluzione durante un periodo di 15-30 s, salvo indicazione diversa.

La sostanza soddisfa al saggio se nessuno dei topi muore entro 24 h o entro il tempo specificato nella singola monografia. Se più di un animale muore, la sostanza non soddisfa al saggio. Ripetere il saggio se muore un animale. La sostanza soddisfa al saggio se nessun animale del secondo gruppo muore entro l'intervallo di tempo specificato.

SIERIMMUNI E VACCINI PER USO UMANO

Salvo indicazione diversa, iniettare per via intraperitoneale una dose umana, della preparazione in esame, ma non più di 1,0 ml, a ciascuno di 5 topi sani, di 17-24 g. La dose umana è quella indicata sull'etichetta della preparazione da esaminare o sul foglietto allegato. Osservare gli animali per 7 giorni.

La preparazione soddisfa al saggio se nessun animale presenta segni di malattia. Se muore più di un animale, la preparazione non soddisfa al saggio. Ripetere il saggio se un animale muore o presenta segni di malattia. La preparazione soddisfa al saggio se nessun animale del secondo gruppo muore o mostra segni di malattia nell'intervallo di tempo specificato.

Il saggio deve essere effettuato anche su 2 cavie sane, ciascuna di 250-400 g. Iniettare, per via intraperitoneale, a ciascun animale una dose umana ma non più di 5,0 ml. La dose umana è quella indicata sull'etichetta della preparazione da esaminare o sul foglietto allegato. Osservare gli animali per 7 giorni.

La preparazione soddisfa al saggio se nessun animale presenta segni di malattia. Se muore più di un animale la preparazione non soddisfa al saggio. Ripetere il saggio se un animale muore o presenta segni di malattia. La preparazione soddisfa al saggio se nessun animale del secondo gruppo muore o presenta segni di malattia nell'intervallo di tempo specificato.

2.6.10. ISTAMINA

Sacrificare una cavia di 250-350 g mantenuta a digiuno nelle 24 h precedenti il saggio. Prelevare una porzione della parte distale dell'intestino tenue lunga 2 cm e svuotare la parte isolata lavando accuratamente con la soluzione B descritta di seguito usando una siringa. Legare un filo sottile a ciascuna estremità e praticare una piccola incisione trasversale a metà della porzione di intestino. Disporre tale porzione in un bagno per organi avente una capacità di 10-20 ml, contenente la soluzione B mantenuta a temperatura costante (34-36 °C) ed attraversata da un flusso di una miscela di 95 parti di ossigeno e 5 parti di anidride carbonica. Fissare uno dei fili vicino al fondo del bagno per organi e l'altro filo ad un miografo isotonico e registrare le contrazioni dell'organo su un chimografo o un altro strumento idoneo a fornire una registrazione continua. Se si usa una leva la sua lunghezza deve essere tale che i movimenti dell'organo siano amplificati di

circa venti volte. La trazione dell'intestino deve essere di circa 9,8 mN (1 g) e deve essere aggiustata in base alla sensibilità dell'organo. Rinnovare il bagno per organi con la soluzione B, lasciare a riposo per 10 min e lavare per 2 o 3 volte con la soluzione B. Stimolare una serie di contrazioni mediante l'aggiunta di volumi misurati di 0,2-0,5 ml di una soluzione di *istamina dicloridrato R* avente una concentrazione che provoca risposte submassimali riproducibili. Questa dose è definita come "dose superiore". Lavare il bagno per organi (preferibilmente facendolo traboccare senza svuotarlo) per 3 volte con la soluzione B prima di ciascuna aggiunta di istamina. Le aggiunte successive devono essere fatte ad intervalli regolari permettendo un completo rilasciamento tra due aggiunte successive (circa 2 min). Aggiungere volumi uguali di una diluizione, a concentrazione molto bassa, di *istamina dicloridrato R* che provocano risposte riproducibili pari approssimativamente a metà di quelle ottenute con la "dose superiore". Questa dose è definita "dose inferiore". Continuare l'aggiunta regolare delle dosi "superiore" ed "inferiore" della soluzione di istamina come indicato precedentemente ed alternare ciascuna aggiunta con un volume uguale di una diluizione della soluzione da esaminare, aggiustando la diluizione in modo che la contrazione dell'intestino, se presente, sia più piccola di quella dovuta alla "dose superiore" di istamina. Determinare se la contrazione, se presente, è riproducibile e se le risposte alle dosi "superiore" ed "inferiore" di istamina restano invariate. Calcolare l'attività della sostanza da esaminare in termini di equivalenti in microgrammi di istamina base a partire dalla diluizione determinata precedentemente.

La quantità così determinata non deve essere superiore al limite prescritto nella monografia.

Se la soluzione da esaminare non provoca una contrazione, preparare al momento una soluzione aggiungendo una quantità di istamina corrispondente al massimo tollerato dalla monografia ed annotare se la contrazione provocata dalla preparazione con l'istamina aggiunta corrisponde alla quantità di istamina aggiunta. Se questo non si verifica o se le contrazioni provocate dalla sostanza da esaminare non sono riproducibili o se le successive risposte alle dosi "superiore" ed "inferiore" di istamina sono diminuite, i risultati del saggio non sono validi e si deve effettuare il saggio per le sostanze ipotensive (2.6.11).

Soluzione A

Sodio cloruro	160,0 g
Potassio cloruro	4,0 g
Calcio cloruro anidro	2,0 g
Magnesio cloruro anidro	1,0 g
Sodio fosfato dibasico dodecaidrato	0,10 g

Acqua per preparazioni iniettabili R sufficiente a dare una soluzione di 1000 ml

Soluzione B

Soluzione A	50,0 ml
Atropina solfato	0,5 mg
Sodio bicarbonato	1,0 g
Glucosio monoidrato	0,5 g

Acqua per preparazioni iniettabili R sufficiente a dare una soluzione di 1000 ml

La soluzione B deve essere preparata di recente ed usata entro 24 h.

2.6.11. SOSTANZE IPOTENSIVE

Effettuare il saggio su un gatto di massa non inferiore a 2 kg ed anestetizzato con cloralio idrato o con un barbiturico che consente di mantenere uniforme la pressione del sangue. Proteggere l'animale dalla perdita di calore corporeo e mantenerlo in modo che la temperatura rettale rimanga entro i limiti fisiologici. Introdurre una cannula nella trachea del gatto. Inserire una cannula riempita con una soluzione eparinizzata di *sodio cloruro soluzione isotonica R* nell'arteria carotide comune e connettere la cannula ad un dispositivo capace di dare una registrazione continua della pressione sanguigna. Inserire nella vena femorale un'altra cannula riempita con una soluzione eparinizzata di *sodio cloruro soluzione isotonica R* attraverso la quale possono essere iniettate le soluzioni di istamina e della sostanza da esaminare. Determinare la sensibilità dell'animale all'istamina mediante iniezione per via endovenosa, ad intervalli regolari, di dosi di *istamina soluzione R* corrispondenti a 0,1 µg ed a 0,15 µg di istamina base per kg di massa corporea. Ripetere almeno tre volte l'iniezione della dose più bassa. Somministrare la seconda iniezione e quelle successive almeno 1 min dopo che la pressione sanguigna è tornata al livello che aveva immediatamente prima dell'iniezione precedente. L'animale è utilizzato nel saggio solo se la caduta della pressione sanguigna alla dose più bassa è facilmente rilevabile e

costante e se la dose più alta provoca risposte maggiori. Disciogliere la sostanza da esaminare in una quantità sufficiente di *sodio cloruro soluzione isotonica R* o in altro solvente prescritto in modo da ottenere la concentrazione prescritta. Iniettare per via endovenosa 1,0 ml di *istamina soluzione R* per kg di massa corporea, seguito da due iniezioni successive della quantità prescritta di soluzione da esaminare ed infine 1,0 ml di *istamina soluzione R*. La seconda, la terza e la quarta iniezione sono effettuate almeno 1 min dopo che la pressione sanguigna è tornata al valore che aveva immediatamente prima dell'iniezione precedente. Ripetere questa serie d'iniezioni per due volte e concludere il saggio iniettando 1,5 ml di *istamina soluzione R* per kg di massa corporea.

Il saggio è valido se la risposta ottenuta dopo l'iniezione di 1,5 ml di *istamina soluzione R* per kg di massa corporea è superiore a quella ottenuta dopo la somministrazione di 1,0 ml. La sostanza da esaminare non soddisfa al saggio se la media delle serie di risposte alla sostanza è superiore alla media delle risposte alla somministrazione di 1,0 ml di *istamina soluzione R* per kg di massa corporea o se una qualsiasi delle dosi della sostanza provoca un'ipotensione maggiore di quella provocata dall'ultima dose della soluzione d'istamina. L'animale in esame non deve essere utilizzato in un altro saggio per le sostanze ipotensive se viene applicato il secondo criterio o nel caso in cui la risposta dell'animale alla dose più alta d'istamina iniettata dopo la somministrazione della sostanza da esaminare sia inferiore alla risposta media alle dosi più basse d'istamina inoculate in precedenza.

2.6.12. CONTROLLO MICROBIOLOGICO DEI PRODOTTI NON STERILI: SAGGI DI CONTA MICROBICA

1. INTRODUZIONE

I saggi descritti di seguito consentono di determinare il numero dei batteri mesofili e dei funghi che possono crescere in condizioni aerobiche.

I saggi sono destinati in primo luogo a determinare se una sostanza o una preparazione soddisfa alle specifiche definite per la qualità microbiologica. Quando utilizzati per questi scopi seguire le istruzioni riportate di seguito, compreso il numero di campioni da prelevare, ed interpretare i risultati come indicato di seguito.

I metodi non sono applicabili ai prodotti contenenti microrganismi vivi come principi attivi.

Si possono utilizzare metodi microbiologici alternativi, compresi metodi automatizzati, purché sia stata dimostrata la loro equivalenza con i metodi di Farmacopea.

2. PROCEDURE GENERALI

Effettuare la determinazione in condizioni destinate ad evitare la contaminazione microbica estrinseca del prodotto in esame. Le precauzioni prese per evitare la contaminazione devono essere tali che esse non influenzino nessun microrganismo che può essere evidenziato con il saggio.

Se il prodotto da esaminare possiede un'attività antimicrobica, questa deve essere il più possibile eliminata o neutralizzata. Se si utilizzano per questo scopo degli agenti neutralizzanti l'attività antimicrobica, si deve dimostrare la loro efficacia e la loro assenza di tossicità nei confronti dei microrganismi.

Se per la preparazione del campione si utilizzano delle sostanze tensioattive, si deve dimostrare la loro assenza di tossicità nei confronti dei microrganismi e la loro compatibilità con gli agenti neutralizzanti.

3. METODI DI CONTA

Usare il metodo di filtrazione su membrana o il metodo di conta su piastra, come prescritto. Il metodo del Numero Più Probabile (NPP) è in generale il metodo meno accurato per le conte microbiche tuttavia può essere il più adatto per alcuni gruppi di prodotti che presentano una contaminazione molto bassa.

La scelta del metodo si basa su fattori come la natura del prodotto e il limite richiesto dei microrganismi. Il metodo scelto deve consentire di effettuare il saggio su un campione di dimensioni sufficienti per permettere la valutazione della conformità alle specifiche. Si deve stabilire l'idoneità del metodo scelto.

4. SAGGIO DI PROMOZIONE DELLA CRESCITA ED APPLICABILITÀ DEL METODO DI CONTA

4-1. *CONSIDERAZIONI GENERALI*

Si deve stabilire la capacità del saggio di rivelare i microrganismi in presenza del prodotto da esaminare.

L'applicabilità del metodo deve essere confermata ogni volta che si effettua un cambiamento dell'esecuzione del saggio o del prodotto che può influenzare i risultati del saggio.

4-2. *PREPARAZIONE DEI CEPPI DI RIFERIMENTO*

Utilizzare sospensioni standardizzate stabili di ceppi in esame o prepararle come indicato di seguito. Le colture

sono effettuate secondo un sistema di lotto di semenza in modo che i microrganismi vitali utilizzati per l'inoculazione non abbiano subito più di 5 passaggi dal lotto di semenza primario di origine. Coltivare separatamente ciascun ceppo batterico e fungino in esame come indicato nella tabella 2.6.12.-1.

Utilizzare la soluzione tampone sodio-cloruro-peptone a pH 7,0 o la soluzione tampone fosfato a pH 7,2 per preparare le sospensioni in esame; per sospendere le spore di *A. niger* può essere aggiunto lo 0,05 per cento di polisorbato 80. Usare le sospensioni entro 2 h o 24 h se conservate a 2-8 °C. Come alternativa invece di preparare e poi diluire una soluzione recente di cellule vegetative di *A. niger* o di *B. subtilis*, preparare una sospensione di spore stabile e poi utilizzarne un volume appropriato per l'inoculazione. Questa sospensione può essere mantenuta a 2-8 °C per un periodo di tempo convalidato.

4-3. *CONTROLLI NEGATIVI*

Per verificare le condizioni di saggio effettuare un controllo usando il diluente scelto in sostituzione della preparazione in esame. Non si deve osservare nessuna crescita microbica.

4-4. *PROMOZIONE DELLA CRESCITA DEI TERRENI*

Effettuare questo controllo su ciascun lotto di terreno, sia pronto per l'uso che preparato da un terreno disidratato o a partire dagli ingredienti descritti.

Seminare delle frazioni/piastrine di terreno liquido di idrolizzato di caseina e soia e di idrolizzato agarizzato di caseina e di soia con un piccolo numero (non più di 100 UFC) di microrganismi indicati nella tabella 2.6.12.-1, utilizzando per ciascuno di essi una frazione/piastra di terreno separata. Seminare le piastrine di terreno agar destrosio-Sabouraud con un piccolo numero (non più di 100 UFC) di microrganismi indicati nella tabella 2.6.12.-1, utilizzando per ciascuno di essi una piastra di terreno separata. Incubare nelle condizioni specificate nella Tabella 2.6.12.-1.

Per i terreni solidi la crescita ottenuta non deve differire di più di un fattore 2 dal valore calcolato per un inoculo standardizzato. Per gli inoculi preparati di recente la crescita dei microrganismi deve essere confrontabile a quella osservata con un lotto di terreno precedentemente controllato ed approvato. I terreni liquidi sono appropriati se si osserva una crescita, nettamente visibile dei microrganismi, confrontabile con quella osservata con un lotto di terreno precedentemente controllato ed approvato.

Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggi di conta microbica

Tabella 2.6.12.-1. Preparazione ed utilizzo dei microrganismi di riferimento

Microrganismo	Preparazione del ceppo di riferimento	Fertilità dei terreni		Applicabilità del metodo di conta in presenza del prodotto	
		Conta totale dei microrganismi aerobi	Funghi e lieviti	Conta totale dei microrganismi aerobi	Funghi e lieviti
<i>Staphylococcus aureus</i> per es. ATCC 6538 NCIMB 9518 CIP 4.83 NBRC 13276	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30-35 °C 18-24 h	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 3 giorni	—	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina /NPP terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 3 giorni	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> per es. ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30-35 °C 18-24 h	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 3 giorni	—	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina /NPP terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 3 giorni	—
<i>Bacillus subtilis</i> per es. ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30-35 °C 18-24 h	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 3 giorni	—	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina /NPP terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 3 giorni	—
<i>Candida albicans</i> per es. ATCC 10231 NCPF 3179 IP 48.72 NBRC 1594	Agar Sabouraud-destrosio o terreno liquido Sabouraud-destrosio 20-25 °C 2-3 giorni	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 5 giorni	Agar Sabouraud-destrosio ≤ 100 UFC 20-25 °C ≤ 5 giorni	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 5 giorni NPP: non applicabile	Agar Sabouraud-destrosio ≤ 100 UFC 20-25 °C ≤ 5 giorni
<i>Aspergillus niger</i> per es. ATCC 16404 NCIMB 149007 IP 1431.83 NBRC 9455	Agar Sabouraud-destrosio o agar-destrosio-patata 20-25 °C 5-7 giorni oppure fino ad ottenere una sporulazione sufficiente	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 5 giorni	Agar Sabouraud-destrosio ≤ 100 UFC 20-25 °C ≤ 5 giorni	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina ≤ 100 UFC 30-35 °C ≤ 5 giorni NPP: non applicabile	Agar Sabouraud-destrosio ≤ 100 UFC 20-25 °C ≤ 5 giorni

4-5. APPLICABILITA' DEL METODO DI CONTA IN PRESENZA DEL PRODOTTO

4-5.1. Preparazione del campione. Il metodo di preparazione del campione dipende dalle caratteristiche fisiche del prodotto da esaminare. Se nessuna delle procedure descritte di seguito si è dimostrata soddisfacente deve essere sviluppata una procedura alternativa.

Prodotti solubili in acqua. Disciogliere o diluire (generalmente si prepara una diluizione 1:10) il prodotto da esaminare in soluzione sodio cloruro-peptone tamponata a pH 7,0, in soluzione tampone fosfato a pH 7,2 o in terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina. Se necessario aggiustare il pH a 6-8. Preparare, se del caso, le diluizioni successive con lo stesso diluente.

Prodotti non grassi insolubili in acqua. Sospendere il prodotto da esaminare (generalmente si prepara una diluizione 1:10) in soluzione tampone sodio cloruro-peptone tamponata a pH 7,0, in soluzione tampone fosfato a pH 7,2 o in terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina. Si può aggiungere una sostanza tensioattiva come 1 g/l di polisorbato 80 per facilitare la sospensione di sostanze difficilmente umettabili. Se necessario aggiustare il pH a 6-8. Preparare, se del caso, le diluizioni successive con lo stesso diluente.

Prodotti grassi. Disciogliere il prodotto da esaminare in isopropile miristato, sterilizzare mediante filtrazione o miscelarlo con la minima quantità richiesta di polisorbato 80 sterile o con un altro agente tensioattivo non inibitore sterile, scaldato se necessario ad una temperatura non superiore a 40 °C o in casi eccezionali a 45 °C. Mescolare accuratamente e mantenere se necessario a temperatura in un bagno maria. Aggiungere il diluente scelto, preferibilmente scaldato, in modo da ottenere una diluizione 1:10 del prodotto iniziale. Mescolare accuratamente mantenendo a temperatura per il tempo minimo necessario a formare un'emulsione. Le successive diluizioni 1:10 possono essere preparate con il diluente scelto al quale è stata aggiunta una quantità appropriata di polisorbato 80 sterile o un altro agente emulsionante non bagnante sterile.

Fluidi o solidi sotto forma di aerosol. Trasferire in maniera aseptica il prodotto in un filtro a membrana o in un recipiente sterile per il successivo campionamento. Utilizzare per ciascun recipiente in esame sia il contenuto totale che il numero definito di dosi dosate da ciascun contenitore in esame (aerosol con valvola dosatrice).

Dispositivi transdermici. Rimuovere il film protettivo dei dispositivi transdermici e porre questi ultimi, con il lato adesivo rivolto verso l'alto, su piastre sterili di vetro o di plastica. Coprire il lato adesivo con un materiale poroso sterile, per esempio garza sterile, per evitare che i dispositivi transdermici aderiscano l'uno all'altro e trasferire i dispositivi in un volume appropriato del diluente scelto contenente degli agenti inattivanti come il polisorbato 80 e/o la lecitina. Agitare energicamente per almeno 30 min.

4-5-2. Inoculazione e diluizione. Aggiungere al campione, preparato come descritto precedentemente (4-5-1), ed a un controllo (non contenente il prodotto in esame) un volume della sospensione microbica sufficiente ad ottenere un inoculo di non più di 100 UFC. Il volume della sospensione utilizzata non deve essere superiore all'1 per cento del volume del prodotto diluito.

Per dimostrare che il recupero microbico dal prodotto è accettabile, si deve effettuare il saggio sul campione preparato con il più basso fattore di diluizione possibile. Se l'attività antimicrobica o la debole solubilità del prodotto lo impediscono, deve essere sviluppato un protocollo specifico. Se non è possibile evitare una inibizione della crescita del campione, procedere ad una neutralizzazione, ad una diluizione o alla filtrazione prima di aggiungere la sospensione microbica.

4-5-3. Neutralizzazione/eliminazione dell'attività antimicrobica. Confrontare il numero di microrganismi ottenuto dal campione, preparato come descritto in 4-5-2 ed incubato secondo la procedura descritta in 4-5-4, con il numero di microrganismi recuperato dalla preparazione di controllo.

Se la crescita è inibita (riduzione di un fattore maggiore di 2), modificare la procedura del saggio in questione per garantire la validità dei risultati. Le modifiche della procedura possono consistere, per esempio, in 1) un aumento del volume del diluente o del terreno di coltura, 2) l'aggiunta di un agente specifico o generale al diluente, 3) una filtrazione su membrana oppure 4) una combinazione delle modifiche citate precedentemente.

Agenti neutralizzanti. Si possono utilizzare degli agenti neutralizzanti per neutralizzare l'attività delle sostanze antimicrobiche interferenti (Tabella 2.6.12.-2). Essi potranno essere aggiunti al diluente scelto o al terreno, preferibilmente prima della sterilizzazione. Se si utilizzano dei neutralizzanti si deve dimostrare la loro efficacia e l'assenza di tossicità nei confronti dei microrganismi effettuando una prova in bianco.

Tabella 2.6.12.-2.- Agenti comuni utilizzati per neutralizzare le sostanze interferenti

Sostanze interferenti	Metodo di neutralizzazione possibile
Glutaraldeide, mercuriali	Sodio idrogenosolfito (sodio bisolfito)
Fenolici, alcoli, aldeidi, sorbato	Diluizione
Aldeidi	Glicina
Composti ammoniaci quaternari (QAC), paraidrossobenzoati (paraben), bis-biguanidi	Lecitina
QAC, iodio, paraben	Polisorbato
Mercuriali	Tioglicolato
Mercuriali, alogeni, aldeidi	Tiosolfato
EDTA (edetato)	Ioni Mg ²⁺ o Ca ²⁺

Se non può essere identificato nessun metodo di neutralizzazione appropriato, si può ipotizzare che l'impossibilità di isolare il microorganismo inoculato sia dovuta all'attività microbica del prodotto. Questa informazione serve per indicare che il prodotto non è suscettibile di essere contaminato dalle specie microbiche considerate. È possibile che il prodotto inibisca solo alcuni microrganismi specificati di seguito ma non ne inibisca altri non presenti tra i ceppi di riferimento qualora quest'ultimi non siano rappresentativi. Dunque effettuare il saggio al più alto fattore di diluizione compatibile con una crescita microbica e il criterio di accettazione specifico.

4-5-4. Recupero del microrganismo in presenza del prodotto. Effettuare saggi separati per ciascuno dei microrganismi indicati. Effettuare la conta solo dei microrganismi del ceppo in esame di inoculo.

4-5-4-1. Filtrazione su membrana. Usare membrane con una dimensione nominale dei pori non superiore a 0,45 µm. Il materiale costituente le membrane è scelto in modo che l'efficienza nel trattenere i batteri non sia influenzata dai costituenti del campione in esame. Utilizzare una membrana filtrante per ciascun microrganismo indicato.

Introdurre nella membrana una quantità appropriata del campione preparato come descritto da 4-5-1 a 4-5-3 (preferibilmente l'equivalente di 1 g di prodotto o meno se il numero presunto di UFC è elevato), filtrare immediatamente e lavare la membrana con un volume appropriato di diluente.

Per la Conta Totale dei Microrganismi Aerobi (CTMA), trasferire la membrana del filtro sulla superficie di idrolizzato agarizzato di soia e caseina. Per la Conta Totale Lieviti/Funghi (CTLF), trasferire la membrana sulla superficie di agar destrosio-Sabouraud. Incubare le piastre come indicato nella Tabella 2.6.12.-1. Effettuare la conta.

4-5-4-2. Metodi di conta su piastra. Effettuare la conta su piastra almeno in doppio per ciascun terreno di coltura ed utilizzare la media dei due risultati.

4-5-4-2-1. Metodo di coltura in profondità

Per piastre di Petri del diametro di 9 cm, introdurre 1 ml del campione, preparato come descritto da 4-5-1 a 4-5-3, e 15-20 ml di idrolizzato agarizzato di soia e caseina oppure agar destrosio-Sabouraud mantenuti ad una temperatura non superiore a 45 °C. Se le piastre di Petri utilizzate sono più grandi, aumenta di conseguenza il volume di agar. Utilizzare per ciascun microrganismo riportato nella Tabella 2.6.12.-1 almeno due piastre di Petri. Incubare le piastre come indicato nella Tabella 2.6.12.-1. Considerare la media aritmetica delle conte effettuate per ciascun terreno e calcolare il numero di UFC nell'inoculo iniziale.

4-5-4-2-2. Metodo di coltura in superficie

Usare piastre di Petri di 9 cm di diametro, aggiungere a ciascuna piastra 15-20 ml di idrolizzato agarizzato di soia e caseina oppure terreno agar destrosio-Sabouraud ad una temperatura di circa 45 °C e lasciar solidificare. Se si usano piastre di Petri più grandi, aumentare conseguentemente il volume dell'agar. Asciugare le piastre, per esempio in una cappa a flusso laminare o in un'incubatrice. Usare almeno due piastre di Petri per ciascun microrganismo riportato nella Tabella 2.6.12.-1. Inoculare sulla superficie del terreno un volume misurato non inferiore a 0,1 ml del campione preparato come descritto da 4-5-1 a 4-5-3. Incubare ed effettuare la conta come prescritto in 4-5-4-2-1.

4-5-4-3. Metodo del Numero Più Probabile (NPP). La precisione e l'accuratezza del metodo del numero più probabile (NPP) è inferiore a quella del metodo di filtrazione su membrana e del metodo di conta su piastra. Risultati meno stringenti sono ottenuti in particolare per la conta dei funghi. Per questo motivo il metodo del numero più probabile è riservato alla Conta totale di lieviti/funghi nei casi in cui non sia disponibile nessun altro metodo. Se l'uso del metodo è giustificato, procedere come segue.

Preparare una serie di almeno tre serie di diluizioni 1:10 come descritto da 4-5-1 a 4-5-3. Prelevare per tre volte 1 g o 1 ml da ciascun livello di diluizione e trasferirlo in tre provette contenenti ciascuna 9-10 ml di terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina. Se necessario aggiungere un agente tensioattivo come il polisorbato 80 o un neutralizzante l'attività antimicrobica. Per una serie di 3 diluizioni si devono inoculare 9 provette.

Incubare tutte le provette a 30-35 °C per non più di 3 giorni. Se la lettura dei risultati è difficile o incerta a causa della natura del prodotto in esame, effettuare una sottocoltura nello stesso terreno liquido oppure in idrolizzato agarizzato di soia e caseina, per 1-2 giorni alla stessa temperatura ed usare questi risultati. Determinare il numero più probabile di microrganismi per grammo o per millilitro del prodotto in esame utilizzando la Tabella 2.6.12.-3.

4-6. RISULTATI ED INTERPRETAZIONE

Dopo aver verificato l'applicabilità del metodo di filtrazione su membrana o della conta su piastra, la conta media ottenuta per ciascun microrganismo in esame non deve differire di più di un fattore 2 dal valore del controllo definito nella Tabella 4-5-2 in assenza del prodotto. Dopo aver verificato l'applicabilità del metodo del numero più probabile, il valore calcolato a partire dall'inoculo deve collocarsi nei limiti fiduciali nel 95 per cento dei risultati ottenuti con il controllo.

Se non è possibile soddisfare questi criteri per uno o più microrganismi sottoposti al saggio mediante i metodi descritti, utilizzare il metodo e le condizioni di saggio che consentono di avvicinarsi il più possibile a questi criteri.

Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggi di conta microbica

Tabella 2.6.12.-3. Valori del numero più probabile di microrganismi

Combinazioni osservate del numero di provette che mostrano una crescita in ciascuna serie			NPP per grammo o per millilitro di prodotto	Limiti fiduciali al 95 per cento
Numero di grammi o di millilitri di prodotto per provette				
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
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. CONTROLLO DEI PRODOTTI

5-1. *QUANTITA' UTILIZZATA PER IL SAGGIO*

Salvo prescrizione diversa, usare 10 g oppure 10 ml di prodotto in esame prelevati con le precauzioni riportate precedentemente. Per i fluidi oppure i solidi in aerosol effettuare il campionamento su 10 recipienti. Per i dispositivi transdermici effettuare il campionamento su 10 dispositivi.

La quantità utilizzata per il saggio è ridotta per le sostanze attive che saranno formulate nelle condizioni seguenti: quantità per unità di dosaggio (per es. compresse, capsule, preparazioni iniettabili) inferiore o uguale a 1 mg o una quantità per grammo o millilitro (per le preparazioni non formulate in unità di dosaggio) inferiore a 1 mg. In questi casi, la quantità utilizzata per il saggio sarà uguale almeno alla quantità contenuta in 10 unità o in 10 g oppure in 10 ml di prodotto.

Per i materiali utilizzati come sostanza attiva quando la quantità del campione è limitata o le dimensioni del campione sono estremamente piccole (per es. inferiore a 1000 ml o a 1000 g), la quantità sottoposta a saggio dovrebbe essere l'1 per cento del lotto, a meno che sia prescritta, giustificata o autorizzata una quantità inferiore. Per prodotti per i quali il numero totale di unità in un lotto è inferiore a 200 (per es. campioni utilizzati negli studi clinici), la dimensione del campione può essere ridotta a 2 unità oppure ad 1 unità se la dimensione è inferiore a 100.

Selezionare il (i) campione (i) a caso dal materiale grezzo o dai contenitori disponibili di preparazione. Per ottenere la quantità richiesta mescolare il contenuto di un numero sufficiente di contenitori per fornire il campione.

5-2. *ESAME DEL PRODOTTO*

5-2-1. **Filtrazione su membrana**

Utilizzare un apparecchio di filtrazione che permette di trasferire la membrana sul terreno. Preparare il campione usando un metodo che è stato dimostrato essere idoneo come descritto nella sezione 4 ed introdurre la quantità appropriata del campione in 2 filtri a membrana. Filtrare immediatamente. Lavare ciascun filtro con la procedura che si è dimostrata appropriata.

Per la Conta Totale dei Microrganismi Aerobi (CTMA), trasferire una delle membrane dei filtri sulla superficie di idrolizzato agarizzato di soia e caseina. Per la Conta Totale Lieviti/Funghi (CTLF) trasferire l'altra membrana sulla superficie di agar destrosio-Sabouraud. Incubare la piastra di idrolizzato agarizzato di soia e caseina a 30-35 °C per 3-5 giorni e la piastra di agar destrosio-Sabouraud a 20-25 °C per 5-7 giorni. Calcolare il numero di UFC per grammo o per millilitro di prodotto.

Quando si esaminano i cerotti transdermici, filtrare il 10 per cento del volume della preparazione descritta nel paragrafo 4-5-1 attraverso due membrane da filtro

sterili. Trasferire una delle due membrane su idrolizzato agarizzato di soia e caseina per la Conta Totale dei Microrganismi Aerobi e l'altra membrana su agar destrosio-Sabouraud per la Conta Totale di Lieviti e Funghi.

5-2-2. **Metodi di conta su piastra**

5-2-2-1. Metodo di coltura in profondità.

Preparare il campione con un metodo per il quale sia stata determinata l'applicabilità come descritto nella sezione 4. Preparare almeno due piastre di Petri per ciascun terreno e per livello di diluizione. Incubare le piastre di idrolizzato agarizzato di soia e caseina a 30-35 °C per 3-5 giorni e la piastra di agar destrosio-Sabouraud a 20-25 °C per 5-7 giorni. Selezionare le piastre corrispondenti ad una determinata diluizione e che presentano il numero più alto di colonie inferiore a 250 per la Conta Totale dei Microrganismi Aerobi e a 50 per la Conta Totale Lieviti/Funghi. Considerare la media aritmetica per terreno di conta e calcolare il numero di UFC per grammo o per millilitro di prodotto.

5-2-2-2. Metodo di coltura in superficie

Preparare il campione con un metodo per il quale sia stata determinata l'applicabilità come descritto nella sezione 4. Preparare almeno due piastre di Petri per ciascun terreno e per ciascun livello di diluizione. Per l'incubazione e per i calcoli procedere come descritto per il metodo di coltura in profondità.

5-2-3. **Metodo del numero più probabile**

Preparare e diluire il campione usando un metodo che si è dimostrato idoneo per l'applicabilità come descritto nella sezione 4. Incubare tutte le provette a 30-35 °C per 3-5 giorni. Effettuare una sottocoltura, se necessario, utilizzando una procedura che si è dimostrata appropriata. Registrare per ciascun livello di diluizione il numero di provette che presentano una crescita microbica. Determinare il numero più probabile di microrganismi per grammo o per millilitro del prodotto in esame utilizzando la tabella 2.6.12.-3.

5-3. *INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI*

Il numero di microrganismi aerobi totali è considerato uguale al numero di UFC ottenute con il terreno di idrolizzato agarizzato di caseina e soia; se nel terreno sono rivelate colonie di funghi o di lieviti esse non sono compatibili con la conta totale dei microrganismi aerobi. Il numero totale di funghi e di lieviti è considerato come uguale al numero di UFC calcolate usando agar destrosio-Sabouraud; se nel terreno sono rivelate colonie di batteri, esse non sono compatibili con la conta totale dei funghi e dei lieviti. Se si prevede che quest'ultima rischia di superare il criterio di accettazione dovuta alla crescita batterica può essere utilizzato un terreno agar destrosio-Sabouraud contenente antibiotici. Se la conta è effettuata con il metodo del numero più probabile il valore calcolato corrisponde alla conta totale dei lieviti e dei funghi.

Quando è prescritto un criterio di accettazione per la qualità microbiologica, esso è interpretato come segue:

- 10^1 UFC: numero massimo accettabile = 20;
- 10^2 UFC: numero massimo accettabile = 200;
- 10^3 UFC: numero massimo accettabile = 2000 e così via.

Le soluzioni ed i terreni raccomandati sono descritti nel capitolo generale 2.6.13.

2.6.13. CONTROLLO MICROBIOLOGICO DI PRODOTTI NON STERILI: SAGGIO PER I MICRORGANISMI SPECIFICATI

1. INTRODUZIONE

I saggi descritti di seguito permettono di controllare l'assenza o la presenza limitata di microrganismi specifici che possono essere rivelati nelle condizioni descritte.

Questi saggi sono in prima istanza destinati a determinare se una sostanza o una preparazione soddisfano una specifica prestabilita in materia di qualità microbiologica. Quando il saggio è utilizzato per questi scopi, si devono seguire le istruzioni riportate di seguito compreso il numero di campioni da considerare e si devono interpretare i risultati come indicato di seguito. Procedure microbiologiche alternative, compresi i metodi automatizzati, possono essere utilizzate a condizione che sia stata dimostrata la loro equivalenza con il metodo della Farmacopea.

2. PROCEDURE GENERALI

Preparare i campioni come descritto nel capitolo generale 2.6.12.

Se il prodotto in esame possiede un'attività antimicrobica, questa deve essere il più possibile eliminata o neutralizzata come descritto nel capitolo 2.6.12.

Se per la preparazione dei campioni si utilizzano sostanze tensioattive, si deve dimostrare la loro assenza di tossicità nei confronti dei microrganismi considerati e la loro compatibilità con i neutralizzanti utilizzati, come descritto nel capitolo 2.6.12.

3. FERTILITA' E PROPRIETA' INIBITRICI DEI TERRENI DI COLTURA E APPLICABILITA' DEL SAGGIO

Si deve stabilire la capacità del saggio di rivelare i microrganismi in presenza del prodotto da esaminare. L'applicabilità del metodo di saggio deve essere confermata ogni volta che si effettua un cambiamento nell'esecuzione del saggio, o del prodotto, che può influenzare il risultato del saggio.

3-1. PREPARAZIONE DEI CEPPI DI RIFERIMENTO

Utilizzare sospensioni standardizzate stabili di ceppi di riferimento o prepararle come indicato di seguito. Le colture sono effettuate secondo un sistema di lotto di semenza in modo che i microrganismi vitali utilizzati per l'inoculazione non abbiano subito più di 5 passaggi dal lotto di semenza primario di origine.

3-1-1. **Microrganismi aerobi.** Coltivare separatamente ciascun ceppo batterico di riferimento in un terreno liquido idrolizzato di caseina e semi di soia o terreno agarizzato di caseina e semi di soia a 35-35 °C per 18-24 h. Coltivare il ceppo in esame di *Candida albicans* su terreno agarizzato di Sabouraud-destrosio o brodo di Sabouraud-destrosio 20-25 °C per 2-3 giorni.

- *Staphylococcus aureus* per es. ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, NBRC 13276;
- *Pseudomonas aeruginosa* per es. ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275;
- *Escherichia coli* per es. ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126, NBRC 3972;
- *Salmonella enterica* ssp. *enterica* sierotipo typhimurium per es. ATCC 14028 o, in alternativa, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* sierotipo abony, per es. NBRC 100797, NCTC 6017, CIP 80.39;
- *Candida albicans* per es. ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72, NBRC 1594.

Utilizzare la soluzione tampone sodio cloruro e peptone a pH 7,0 o il tampone fosfato soluzione a pH 7,2 per preparare le sospensioni di riferimento. Utilizzare le sospensioni entro 2 h o entro 24 h se sono conservate a 2-8 °C.

3-1-2. **Clostridi.** Utilizzare un ceppo di *Clostridium sporogenes* per esempio ATCC 11437 (NBRC 14293, NCMB 12343, CIP 100651) o ATCC 19404 (NCTC 532, CIP 79.03) o NBRC 14293. Coltivare il ceppo in esame in condizioni anaerobiche in un terreno rinforzato per i clostridi a 35-35 °C per 18-24 h. Anziché preparare e diluire una sospensione fresca di cellule in stato vegetativo di *Cl. sporogenes*, si può utilizzare per l'inoculo una sospensione di spore stabili. Questa sospensione può essere mantenuta a 2-8 °C durante il periodo di tempo convalidato.

3-2. CONTROLLO NEGATIVO

Per verificare le condizioni operative effettuare un controllo negativo preparato sostituendo la preparazione in esame con il diluente scelto. Non si deve osservare nessuna crescita microbica.

3-3. FERTILITA' E PROPRIETA' INIBITRICI DEI TERRENI

Effettuare questo controllo su ciascun lotto di terreno, sia pronto per l'uso che preparato da un terreno disidratato oppure preparato dagli ingredienti descritti.

Verificare che i terreni in questione abbiano le proprietà appropriate come descritto nella Tabella 2.6.13.-1.

Saggio per verificare la fertilità, terreni liquidi: inoculare una porzione del terreno appropriato con un piccolo numero (non più di 100 UFC) del microrganismo appropriato. Incubare alla temperatura specificata per un tempo non superiore a quello più breve specificato nel saggio. Si osserva una crescita chiaramente visibile del microrganismo confrontabile con quella precedentemente ottenuta con un lotto di terreno precedentemente sottoposto a saggio ed approvato.

Controllo microbiologico di prodotti non sterili: saggio per i microrganismi specificati

Tabella 2.6.13.-1- *Fertilità, proprietà inibitrici e proprietà indicatrici dei terreni*

	Terreno	Proprietà	Microrganismo di riferimento
Saggio per i batteri gram-negativi resistenti ai sali biliari	Terreno liquido di Mossel di arricchimento per Enterobatteri	fertilità	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>
		p. inibitrici	<i>S. aureus</i>
	Agar alla bile con glucosio, cristal violetto, rosso neutro	fertilità + p. indicatrici	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>
Saggio per l' <i>Escherichia coli</i>	Terreno liquido di MacConkey	fertilità	<i>E. coli</i>
		p. inibitrici	<i>S. aureus</i>
	Agar MacConkey	fertilità + p. indicatrici	<i>E. coli</i>
Saggio per la <i>Salmonella</i>	Terreno liquido di Rappaport-Vassiliadis di arricchimento per <i>Salmonella</i>	fertilità	<i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> sierotipo typhimurium o <i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> sierotipo abony
		p. inibitrici	<i>S. aureus</i>
	Agar desossicolato-xilosio-lisina	fertilità + p. indicatrici	<i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> sierotipo typhimurium o <i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> sierotipo abony
		p. indicatrici	<i>E. coli</i>
Saggio per la <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar cetrimmide	fertilità	<i>P. aeruginosa</i>
		p. inibitrici	<i>E. coli</i>
Saggio per <i>Staphylococcus aureus</i>	Agar-sale-mannitolo	fertilità + p. indicatrici	<i>S. aureus</i>
		p. inibitrici	<i>E. coli</i>
Saggio per Clostridi	Terreno rinforzato per Clostridi	fertilità	<i>Cl. sporogenes</i>
	Agar Columbia	fertilità	<i>Cl. sporogenes</i>
Saggio per la <i>Candida albicans</i>	Terreno fluido destrosio-Sabouraud	fertilità	<i>C. albicans</i>
	Agar destrosio-Sabouraud	fertilità + p. indicatrici	<i>C. albicans</i>

Saggio per verificare la fertilità, terreni solidi: applicare il metodo di semina in superficie, inoculando ciascuna piastra con un piccolo numero (non più di 100 UFC) degli appropriati microrganismi. Incubare alla temperatura specificata per un tempo non superiore a quello più breve specificato nel saggio. Si verifica una crescita di microrganismi confrontabile con quella precedentemente ottenuta con un lotto di terreno preventivamente sottoposto a saggio ed approvato.

Saggio per verificare le proprietà inibitrici, terreni solidi e liquidi: inoculare il terreno appropriato con almeno 100 UFC dell'appropriato microrganismo. Incubare alla temperatura specificata per un tempo non inferiore a quello più lungo specificato per il saggio. Non si deve verificare la crescita di microrganismi.

Saggio per verificare le proprietà indicatrici: applicare il metodo di semina in superficie, inoculando ciascuna piastra con un piccolo numero (non più di 100 UFC) dell'appropriato microrganismo. Incubare alla temperatura specificata per un periodo di tempo compreso nell'intervallo specificato per il saggio. Le colonie sono confrontabili, per il loro aspetto e le reazioni indicatrici osservate, a quelle ottenute con un lotto di terreno di coltura precedentemente sottoposto a saggio e approvato.

3-4. APPLICABILITA' DEL METODO DI SAGGIO

Per ciascun prodotto da sottoporre al saggio, eseguire la preparazione del campione come descritto nel pertinente paragrafo della sezione 4. Aggiungere ciascun ceppo di riferimento al momento della miscelazione del prescritto terreno di coltura. Effettuare il saggio singolarmente con ciascun ceppo di riferimento. Utilizzare un numero di microrganismi corrispondente a non più di 100 UFC nella preparazione in esame inoculata. Effettuare il saggio come prescritto nel pertinente paragrafo della sezione 4 usando il più breve periodo di incubazione prescritto.

I microrganismi specificati devono essere rivelati attraverso le reazioni indicatrici descritte nella sezione 4.

Se il prodotto ha attività antimicrobica è necessario modificare la procedura del saggio (vedere il paragrafo 4-5-3 del capitolo generale 2.6.12).

Se per un dato prodotto non può essere neutralizzata l'attività antimicrobica nei confronti di un microrganismo

per il quale è prescritto il saggio, si assume che questo microrganismo inibito non sia presente nel prodotto.

4. CONTROLLO DEI PRODOTTI

4-1. BATTERI GRAM-NEGATIVI RESISTENTI AI SALI BILIARI

4-1-1. Preparazione del campione e pre-incubazione. Preparare un campione usando una diluizione 1:10 di almeno 1 g del prodotto in esame come descritto nel capitolo generale 2.6.12, ma usando terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina in sostituzione del diluente. Mescolare ed incubare a 20-25 °C per un tempo sufficiente a rivitalizzare i batteri ma non sufficiente a permettere la loro moltiplicazione (generalmente 2 h ma non più di 5 h).

4-1-2. Saggio per verificare l'assenza dei batteri. Ad eccezione di prescrizione diversa, utilizzare il volume corrispondente ad 1 g di prodotto, preparato come descritto in 4-1-1, per inoculare il terreno liquido di Mossel di arricchimento per gli enterobatteri.

Incubare a 30-35 °C per 24-48 h. Effettuare una sottocoltura su piastre di agar alla bile con glucosio, cristal violetto, rosso neutro. Incubare a 30-35 °C per 18-24 h. Il prodotto soddisfa al saggio se non si verifica la crescita di colonie.

4-1-3. Saggio quantitativo

4-1-3-1. Selezione e sottocoltura. Inoculare appropriate quantità di terreno di Mossel di arricchimento per gli enterobatteri con la preparazione, come descritto in 4-1-1 e/o diluizioni della preparazione contenenti rispettivamente 0,1 g, 0,01 g e 0,001 g (o 0,1 ml, 0,01 ml e 0,001 ml) del prodotto in esame. Incubare a 30-35 °C per 24-48 h. Effettuare una sottocoltura di ciascuna coltura in piastre di agar alla bile con glucosio, cristal violetto, rosso neutro. Incubare a 30-35 °C per 18-24 h.

4-1-3-2. Interpretazione. La crescita di colonie costituisce un risultato positivo. Annotare la più piccola quantità di prodotto che dà un risultato positivo e la più grande quantità di prodotto che dà un risultato negativo. Determinare il numero più probabile di batteri con l'ausilio della Tabella 2.6.13.-2.

Tabella 2.6.13.-2 Interpretazione dei risultati

Risultati ottenuti con una quantità di prodotto di			Numero probabile di batteri per grammo o millilitro di prodotto
0,1 g o 0,1 ml	0,01 g o 0,01 ml	0,001 g o 0,001 ml	
+	+	+	$>10^3$
+	+	-	$<10^3$ e $>10^2$
+	-	-	$<10^2$ e >10
-	-	-	<10

4-2. *ESCHERICHIA COLI*

4-2-1. Preparazione del campione e pre-incubazione.

Preparare il campione come descritto nel capitolo generale 2.6.12., usando una diluizione 1:10 di almeno 1 g di prodotto in esame, ed inoculare una quantità appropriata (determinata come descritto in 3-4) del terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina con 10 ml di campione o la quantità corrispondente a 1 g o 1 ml di prodotto. Mescolare ed incubare a 30-35 °C per 18-24 h.

4-2-2. Selezione e sottocoltura. Agitare il contenitore, trasferire 1 ml di terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina in 100 ml di terreno liquido MacConkey ed incubare a 42-44 °C per 24-48 h. Effettuare una sottocoltura in agar MacConkey a 30-35 °C per 18-72 h.

4-2-3. Interpretazione. La crescita di colonie indica la possibile presenza di *E. coli*, da confermare mediante i saggi di identificazione.

Il prodotto soddisfa al saggio se non sono presenti colonie o se i saggi di identificazione sono negativi.

4-3. *SALMONELLA*

4-3-1. Preparazione del campione e pre-incubazione.

Preparare il campione in esame come descritto nel capitolo generale 2.6.12., ed inoculare una quantità appropriata (determinata come descritto in 3-4) di terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina con una quantità di campione corrispondente ad almeno 10 g o 10 ml di prodotto. Mescolare ed incubare a 30-35 °C per 18-24 h.

4-3-2. Selezione e sottocoltura. Trasferire 0,1 ml di terreno liquido di idrolizzato di sodio e caseina in 10 ml di terreno liquido Rappaport-Vassiliadis di arricchimento

per le salmonelle ed incubare a 30-35 °C per 18-24 h. Effettuare una sottocoltura in piastre di agar desossicolato, xilosio, lisina. Incubare a 30-35 °C per 18-48 h.

4-3-3. Interpretazione. La possibile presenza di *Salmonella* è indicata dalla crescita di colonie rosse ben sviluppate, con o senza un centro nero.

Il prodotto soddisfa il saggio se non si osserva la presenza di colonie del tipo descritto o se i saggi di identificazione di conferma sono negativi.

4-4. *PSEUDOMONAS AEURIGINOSA*

4-4-1. Preparazione del campione ed pre-incubazione.

Preparare un campione come descritto nel capitolo generale 2.6.12, utilizzando una diluizione 1:10 di almeno 1 g di prodotto in esame ed inoculare una quantità appropriata (determinata come descritto in 3-4) di terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina con 10 ml di campione o la quantità corrispondente a 1 g o 1 ml e mescolare. Per i cerotti transdermici, filtrare, attraverso una membrana sterile, un volume di campione corrispondente ad 1 cerotto preparato come descritto nel capitolo generale 2.6.12, paragrafo 4-5-1; poi trasferire la membrana in 100 ml di terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina. Incubare a 30-35 °C per 18-24 h.

4-4-2. Selezione e sottocoltura. Effettuare una sottocoltura in piastra di agar cetrinimide ed incubare a 30-35 °C per 18-72 h.

4-4-3. Interpretazione. La crescita di colonie indica la possibile presenza di *P. aeruginosa*, da confermare mediante i saggi di identificazione.

Il prodotto soddisfa il saggio se non si osserva la presenza di colonie o se i saggi di identificazione di conferma sono negativi.

4-5. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

4-5-1. Preparazione del campione e pre-incubazione.

Preparare un campione come descritto nel capitolo generale 2.6.12, utilizzando una diluizione 1:10 di almeno 1 g del prodotto in esame, ed inoculare una quantità appropriata (determinata come descritto in 3-4) di terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina con 10 ml di campione o la quantità corrispondente a 1 g o 1 ml e mescolare. Per i cerotti transdermici, filtrare attraverso una membrana da filtro sterile, il volume di campione corrispondente ad un cerotto preparato come descritto nel capitolo 2.6.12, al paragrafo 4-5-1, e poi trasferire la membrana in 100 ml di terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina. Incubare a 30-35 °C per 18-24 h.

4-5-2. **Selezione e sottocoltura.** Effettuare una sottocoltura su una piastra d'agar-sale-mannitolo ed incubare a 30-35 °C per 18-72 h.

4-5-3. **Interpretazione.** La crescita di colonie gialle/bianche circondate da una zona gialla indica la possibile presenza di *S. aureus*, da confermare mediante i saggi di identificazione.

Il prodotto soddisfa il saggio se non si osserva la presenza di colonie del tipo descritto oppure se i saggi di identificazione per la conferma sono negativi.

4-6. *CLOSTRIDI*

4-6-1. **Preparazione del campione e trattamento al calore.** Preparare il prodotto in esame come descritto nel capitolo generale 2.6.12. Prelevare due porzioni uguali corrispondenti ad almeno 1 g o 1 ml del prodotto in esame. Scaldare una porzione a 80 °C per 10 min e raffreddare rapidamente. Non scaldare l'altra porzione.

4-6-2. **Selezione e sottocoltura.** Trasferire 10 ml di ciascuna delle due frazioni omogeneizzate in due recipienti di 38 mm×2000 mm, oppure in altri recipienti appropriati, contenenti 100 ml di terreno rinforzato per i clostridi. Incubare in condizioni anaerobiche a 30-35 °C per 48 h. Dopo incubazione, effettuare, a partire da ciascun recipiente, una sottocoltura su agar Columbia ed incubare in condizioni aerobiche a 30-35 °C per 48 h.

4-6-3. **Interpretazione.** La crescita anaerobica di bastoncini (con o senza endospore) che danno una reazione negativa alla catalasi indica la presenza di clostridi.

Il prodotto soddisfa al saggio se non si osserva crescita microbica anaerobica su agar Columbia o se il saggio della catalasi è positivo.

4-7. *CANDIDA ALBICANS*

4-7-1. **Preparazione del campione e pre-incubazione.** Preparare il prodotto in esame come descritto nel capitolo generale 2.6.12, ed inoculare 100 ml di terreno liquido Sabouraud-destrosio con 10 ml di campione oppure con la quantità corrispondente a 1 g o 1 ml di prodotto. Mescolare ed incubare a 30-35 °C per 3-5 giorni.

4-7-2. **Selezione e sottocoltura.** Effettuare una sottocoltura in una piastra di agar Sabouraud-destrosio ed incubare a 30-35 °C per 24-48 h.

4-7-3. **Interpretazione.** La crescita di colonie bianche indica la presenza possibile di *C. albicans*, da confermare mediante saggi di identificazione.

Il prodotto soddisfa al saggio se non si osserva la presenza di colonie oppure se i saggi di identificazione per la conferma sono negativi.

La sezione seguente è riportata come informazione.

5. SOLUZIONI E TERRENI DI COLTURA RACCOMANDATI

Le soluzioni e i terreni di coltura riportati di seguito si sono rivelati soddisfacenti agli scopi per i quali essi sono prescritti nel saggio della contaminazione microbica della Farmacopea. Si possono usare altri terreni di coltura se essi hanno analoghe proprietà nutritive e inibitrici.

Soluzione tampone madre. Introdurre 34 g di potassio fosfato monobasico in un pallone tarato da 1000 ml, disciogliere in 500 ml di acqua depurata, correggere il pH a $7,2 \pm 0,2$ con sodio idrossido, diluire a 1000,0 ml con acqua depurata e mescolare. Ripartire in recipienti e sterilizzare. Conservare a 2-8 °C.

Tampone soluzione fosfato a pH 7,2. Preparare una miscela (1:800 V/V) della soluzione tampone madre e di acqua depurata e sterilizzare.

Controllo microbiologico di prodotti non sterili: saggio per i microrganismi specificati

Sodio cloruro-peptone soluzione tamponata a pH 7,0

Potassio fosfato monobasico	3,6 g
Sodio fosfato dibasico diidrato	7,2 g equivalente a 0,067 M di fosfato
Sodio cloruro	4,3 g
Peptone (carne o caseina)	1,0 g
Acqua depurata	1000 ml

Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina

Idrolizzato pancreatico di caseina	17,0 g
Idrolizzato papaico di semi di soia	3,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Potassio fosfato dibasico	2,5 g
Glucosio monoidrato	2,5 g
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia $7,3 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Idrolizzato agarizzato di soia e caseina

Idrolizzato pancreatico di caseina	15,0 g
Idrolizzato papaico di semi di soia	5,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Agar	15,0 g
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia $7,3 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Agar Sabouraud-destrosio

Destrosio	40,0 g
Miscela di idrolizzato peptico di tessuto animale e di idrolizzato pancreatico di caseina (1:1)	10,0 g
Agar	15,0 g
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH così che dopo la sterilizzazione sia $5,6 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Terreno agar-destrosio-patata

Infusione di patata	200,0 g
Destrosio	20,0 g
Agar	15,0 g
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia $5,6 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Terreno liquido Sabouraud-destrosio

Destrosio	20,0 g
Miscela di idrolizzato peptico di tessuto animale e di idrolizzato pancreatico di caseina (1:1)	10,0 g
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH così che dopo la sterilizzazione sia $5,6 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Terreno liquido Mossel di arricchimento per gli Enterobatteri

Idrolizzato pancreatico di gelatina	10,0 g
Glucosio monoidrato	5,0 g
Bile di bue disidratata	20,0 g
Potassio fosfato monobasico	2,0 g
Sodio fosfato dibasico diidrato	8,0 g
Verde brillante	15 mg
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo il riscaldamento sia $7,2 \pm 0,2$ a 25 °C. Scaldare a 100 °C per 30 min e raffreddare immediatamente.

Agar alla bile con glucosio, cristal violetto, rosso neutro

Estratto di lievito	3,0 g
Idrolizzato pancreatico di gelatina	7,0 g
Sali biliari	1,5 g
Lattosio monoidrato	10,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Glucosio monoidrato	10,0 g
Agar	15,0 g
Rosso neutro	30 mg
Cristal violetto	2 mg
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo il riscaldamento sia $7,4 \pm 0,2$ a 25 °C. Scaldare all'ebollizione, ma non in autoclave.

Terreno liquido MacConkey

Idrolizzato pancreatico di gelatina	20,0 g
Lattosio monoidrato	10,0 g
Bile di bue disidratata	5,0 g
Bromocresolo porpora	10 mg
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia $7,3 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Controllo microbiologico di prodotti non sterili: saggio per i microrganismi specificati

Agar MacConkey

Idrolizzato pancreatico di gelatina	17,0 g
Peptoni (carne e caseina)	3,0 g
Lattosio monoidrato	10,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Sali biliari	1,5 g
Agar	13,5 g
Rosso neutro	30,0 mg
Cristal violetto	1 mg
Acqua purificata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia $7,1 \pm 0,2$ a 25 °C. Bollire per 1 min agitando costantemente quindi sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Terreno liquido Rappaport-Vassiliadis di arricchimento per *Salmonella*

Peptone di soia	4,5 g
Magnesio cloruro esaidrato	29,0
Sodio cloruro	8,0
Potassio fosfato dibasico	0,4
Potassio fosfato monobasico	0,6
Verde malachite	0,036
Acqua depurata	1000 ml

Disciogliere scaldando leggermente. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato, a temperatura non superiore a 115 °C. Il pH deve essere $5,2 \pm 0,2$ a 25 °C dopo riscaldamento e passaggio in autoclave.

Agar desossicolato, xilosio, lisina

Xilosio	3,5 g
L-Lisina	5,0 g
Lattosio monoidrato	7,5 g
Saccarosio	7,5 g
Sodio cloruro	5,0 g
Estratto di lievito	3,0 g
Rosso fenolo	80 mg
Agar	13,5 g
Sodio desossicolato	2,5 g
Sodio tiosolfato	6,8 g
Ferro(-ico) ammonico citrato	0,8 g
Acqua depurata	1000 ml

Aggiustare il pH in modo che dopo il riscaldamento sia $7,4 \pm 0,2$ a 25 °C. Scaldare all'ebollizione, raffreddare a 50 °C e versare nelle piastre di Petri. Non scaldare in autoclave.

Agar cetrinimide

Idrolizzato pancreatico di gelatina	20,0 g
Magnesio cloruro	1,4 g
Potassio disolfato	10,0 g
Cetrinimide	0,3 g
Agar	13,6 g
Acqua depurata	1000 ml

Glicerolo 10,0 ml

Scaldare all'ebollizione per 1 min agitando. Aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia $7,2 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Agar, sale, mannitolo

Idrolizzato pancreatico di caseina	5,0 g
Idrolizzato peptico di tessuto animale	5,0
Estratto di carne di bue	1,0
D-Mannitolo	10,0
Sodio cloruro	75,0
Agar	15,0
Rosso fenolo	0,025
Acqua depurata	1000 ml

Scaldare all'ebollizione per i min agitando. Aggiustare il pH in modo che dopo sterilizzazione sia $7,4 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Terreno rinforzato per i Clostridi

Estratto di carne di manzo	10,0 g
Peptone	10,0 g
Estratto di lievito	3,0 g
Amido solubile	1,0 g
Glucosio monoidrato	5,0 g
Cisteina cloridrato	0,5 g
Sodio cloruro	5,0 g
Sodio acetato	3,0 g
Agar	0,5 g
Acqua depurata	1000 ml

Idratare l'agar, disciogliere mediante riscaldamento all'ebollizione agitando continuamente. Se necessario, aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia circa $6,8 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato.

Agar Columbia

Idrolizzato pancreatico di caseina	10,0 g
Idrolizzato peptico di carne	5,0 g
Idrolizzato pancreatico di cuore	3,0 g
Estratto di lievito	5,0 g
Amido di mais	1,0 g
Sodio cloruro	5,0 g
Agar (a seconda del potere gelificante)	10,0 - 15,0 g
Acqua depurata	1000 ml

Idratare l'agar, disciogliere mediante riscaldamento all'ebollizione agitando continuamente. Se necessario, aggiustare il pH in modo che dopo la sterilizzazione sia $7,3 \pm 0,2$ a 25 °C. Sterilizzare in autoclave usando un ciclo convalidato. Lasciare raffreddare a 45-50 °C; aggiungere, se necessario, gentamicina solfato corrispondente a 20 mg di gentamicina base e versare nelle piastre di Petri.

2.6.14. ENDOTOSSINE BATTERICHE

Il saggio per le endotossine è usato per rivelare o quantificare, mediante un lisato di amebociti di limulo (*Limulus polyphemus* o *Tachypleus tridentatus*), le endotossine che derivano dai batteri gram-negativi. Ci sono tre tecniche per questo saggio: la tecnica di gelificazione, basata sulla formazione di un gel; la tecnica turbidimetrica, basata sullo sviluppo di torbidità dopo lo sfaldamento di un substrato endogeno; la tecnica cromogena, basata sullo sviluppo di colore dopo lo sfaldamento di un complesso sintetico peptide-cromogeno.

In questo capitolo sono descritti i sei metodi seguenti:

Metodo A. Metodo di gelificazione: saggio limite.

Metodo B. Metodo di gelificazione: saggio semi-quantitativo.

Metodo C. Metodo cinetico turbidimetrico.

Metodo D. Metodo cinetico cromogeno.

Metodo E. Metodo cromogeno al punto finale.

Metodo F. Metodo turbidimetrico al punto finale.

Effettuare il saggio con uno dei sei metodi. In caso di dubbio o di disputa la decisione finale è presa sulla base del metodo A, se non diversamente indicato nella monografia.

Effettuare il saggio in modo da evitare la contaminazione endotossinica.

Apparecchiatura

Depirogenare tutta la vetreria e gli altri apparecchi stabili al calore in una stufa ad aria calda usando un metodo convalidato. Generalmente, la durata e la temperatura minime sono 30 min a 250 °C. Se si utilizzano apparecchi di plastica, come piastre di micro-titolazione o puntali per pipette automatiche, usare apparecchi che sono esenti da endotossine rivelabili e da effetti interferenti con il saggio.

NOTA: In questo capitolo il termine «provetta» indica tutti i tipi di recipiente, per esempio i pozzetti di una piastra per microtitolazione.

Preparazione della soluzione madre di endotossina standard

La soluzione madre di endotossina standard è preparata da uno standard di endotossina di riferimento che è stato titolato per confronto con lo Standard Internazionale, per esempio *Endotossina standard PBR*.

Il contenuto di endotossine è espresso in Unità Internazionali (U.I.). L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'O.M.S.

NOTA: Una Unità Internazionale (U.I.) di endotossina equivale ad una Unità Endotossinica (U.E.).

Per la preparazione e la conservazione della soluzione madre di endotossina standard seguire le specifiche del foglio illustrativo e dell'etichetta.

Preparazione delle soluzioni di endotossina standard

Dopo mescolamento energetico della soluzione madre di endotossina standard preparare le serie di diluizioni appropriate di questa soluzione usando acqua per il saggio delle endotossine batteriche (acqua SEB).

Usare le soluzioni nel più breve tempo possibile per evitare la perdita di attività a causa dell'adsorbimento.

Preparazione delle soluzioni in esame

Preparare le soluzioni in esame sciogliendo o diluendo le sostanze attive o i medicinali usando acqua SEB. Alcune sostanze o preparazioni possono essere disciolte o diluite più appropriatamente in altre soluzioni acquose. Se necessario, aggiustare il pH della soluzione in esame (o della diluizione) in modo che il pH della miscela del lisato e della soluzione in esame sia compreso nell'intervallo di pH specificato dal produttore del lisato. Questo generalmente si applica per un prodotto con un pH nell'intervallo tra 6,0 e 8,0. Il pH può essere aggiustato usando acidi, basi o un tampone appropriato, come raccomandato dal produttore del lisato. Gli acidi e le basi possono essere preparati da concentrati o solidi usando acqua SEB in recipienti esenti da endotossine rivelabili. I tamponi devono essere convalidati come esenti da endotossine rivelabili e da fattori interferenti.

Determinazione della Massima Diluizione Valida

La Massima Diluizione Valida (MDV) è la massima diluizione ammessa di un campione alla quale può essere determinato il limite endotossinico. Determinare la MDV mediante l'espressione seguente:

$$MDV = \frac{\text{limite endotossinico} \times \text{concentrazione della soluzione in esame}}{\lambda}$$

Limite endotossinico: il limite di endotossine per le sostanze attive somministrate per via parenterale, definito in base alla dose, è uguale a

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

K = dose pirogenica soglia di endotossina per chilogrammo di massa corporea e per ora,

M = dose massima raccomandata di prodotto per chilogrammo di massa corporea e per ora.

Il limite endotossinico per le sostanze attive somministrate per via parenterale è specificato nelle monografie in unità, quali U.I./ml, U.I./mg, U.I./Unità di attività biologica ecc.

Concentrazione della soluzione in esame:

- in mg/ml, se il limite endotossinico è specificato rispetto alla massa (U.I./mg),
- in Unità/ml, se il limite endotossinico è specificato da unità di attività biologica (U.I./Unità),
- in ml/ml, se il limite endotossinico è specificato rispetto al volume (U.I./ml).

λ = la sensibilità del lisato dichiarata nella tecnica di gelificazione (U.I./ml) o il punto più basso usato nella curva di taratura nelle tecniche turbidimetriche o cromogene.

TECNICA DI GELIFICAZIONE (METODI A e B)

La tecnica di gelificazione permette la rivelazione o la quantificazione delle endotossine e si basa sulla coagulazione del lisato in presenza di endotossine. La concentrazione di endotossine richiesta per la coagulazione del lisato in condizioni standardizzate rappresenta la sensibilità dichiarata del lisato. Per assicurare sia la precisione che la validità del saggio, verificare la sensibilità dichiarata del lisato e effettuare il saggio per i fattori interferenti come descritto in 1. *Saggi preliminari*.

1. SAGGI PRELIMINARI

(i) Verifica della sensibilità dichiarata del lisato

Prima dell'uso nel saggio, verificare la sensibilità dichiarata λ della soluzione del lisato, espressa in U.I./ml, su una serie di soluzioni preparate in 4 ripetizioni. La verifica della sensibilità del lisato si effettua quando si usa un nuovo lotto di lisato o quando vi è un cambiamento nelle condizioni sperimentali che possono influenzare la riuscita del saggio.

Preparare le soluzioni standard con almeno quattro concentrazioni equivalenti a 2λ , λ , $0,5\lambda$ e $0,25\lambda$ diluendo la soluzione madre di endotossina standard con acqua SEB.

In ciascuna provetta mescolare un volume della soluzione del lisato con un volume uguale di una delle soluzioni standard (per es. aliquote di 0,1 ml).

Quando si usano flaconcini di saggio singoli o fiale contenenti lisato liofilizzato, aggiungere le soluzioni direttamente al flaconcino o alle fiale. Incubare la miscela di reazione per un periodo costante in accordo con le raccomandazioni del produttore del lisato (generalmente 37 ± 1 °C per 60 ± 2 min) evitando le vibrazioni. Esaminare l'integrità del gel: per le provette, prelevare a turno ciascuna provetta direttamente dall'incubatore e capovolgerla di circa 180° con un movimento dolce. Registrare il risultato come positivo se si è formato un gel compatto che non si muove per capovolgimento. Il risultato è negativo se non si è formato un gel compatto.

Il saggio è valido solo se le soluzioni standard a concentrazione più bassa presentano un risultato negativo in tutte le ripetizioni.

Il punto finale è l'ultimo risultato positivo di una serie di concentrazioni decrescenti di endotossina. Calcolare il valore medio dei logaritmi delle concentrazioni al punto finale e poi l'antilogaritmo del valore medio usando l'espressione seguente:

$$\text{Media geometrica della concentrazione al punto finale} = \text{antilog} \frac{\sum e}{f}$$

$\sum e$ = sommatoria del log delle concentrazioni al punto finale della serie di diluizioni usate,

f = numero di ripetizioni.

La media geometrica della concentrazione al punto finale è la sensibilità misurata della soluzione del lisato (U.I./ml). Se questa non è inferiore a $0,5\lambda$ e non è superiore a 2λ , la sensibilità dichiarata è confermata ed è usata nei saggi effettuati con questo lisato.

(ii) Saggio per i fattori interferenti

Preparare le soluzioni A, B, C e D come indicato nella tabella 2.6.14.-1 ed usare le soluzioni in esame ad una diluizione inferiore alla MDV, non contenenti endotossine rivelabili, operando come descritto in 1. Saggi Preliminari, (i) Verifica della sensibilità dichiarata del lisato.

La media geometrica delle concentrazioni al punto finale delle soluzioni B e C sono determinate usando l'espressione descritta in 1. Saggi Preliminari, (i) Verifica della sensibilità dichiarata del lisato.

Il saggio per i fattori interferenti si ripete quando sono apportati cambiamenti alle condizioni sperimentali che possono influenzare il risultato del saggio.

Tabella 2.6.14.-1.

Soluzione	Concentrazione di endotossina/ Soluzione alla quale è aggiunta l'endotossina	Diluyente	Fattore di diluizione	Concentrazione iniziale di endotossina	Numero di ripetizioni
A	Nessuna/Soluzione in esame	—	—	—	4
B	2λ/Soluzione in esame	Soluzione in esame	1	2λ	4
			2	1λ	4
			4	0,5λ	4
			8	0,25λ	4
C	2λ/Acqua SEB	Acqua SEB	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0,5λ	2
			8	0,25λ	2
D	Nessuna/Acqua SEB	—	—	—	2

Soluzione A = soluzione della preparazione in esame che è esente da endotossine rivelabili.

Soluzione B = saggio per l'interferenza.

Soluzione C = controllo della sensibilità dichiarata del lisato.

Soluzione D = controllo negativo (acqua SEB).

Il saggio è valido solo se nessuna delle ripetizioni delle soluzioni A e D dà una reazione e se il risultato della soluzione C conferma la sensibilità dichiarata del lisato.

Se la sensibilità del lisato determinata con la soluzione B non è inferiore a 0,5λ e non è superiore a 2λ, la soluzione in esame non contiene fattori interferenti nelle condizioni sperimentali usate. Altrimenti la soluzione interferisce con il saggio.

Se la preparazione in esame interferisce con il saggio ad una concentrazione inferiore alla MDV, ripetere il saggio per i fattori interferenti usando una diluizione più elevata ma non superiore alla MDV. L'uso di un lisato più sensibile permette di usare una diluizione più elevata della preparazione in esame e questo può contribuire all'eliminazione dell'interferenza.

L'interferenza può essere superata mediante un trattamento appropriato come la filtrazione, la neutralizzazione, la dialisi o il trattamento con calore. Per stabilire se il trattamento scelto ha effettivamente eliminato l'interferenza senza perdita di endotossine, ripetere il saggio per evidenziare i fattori di interferenza usando la preparazione in esame alla quale è stata aggiunta l'endotossina standard, dopo aver sottoposto la miscela al trattamento considerato.

2. SAGGIO LIMITE (METODO A)

(i) Procedura

Preparare le soluzioni A, B, C e D come indicato nella tabella 2.6.14.-2 ed effettuare il saggio su queste soluzioni seguendo la procedura descritta in 1. Saggi Preliminari, (i) Verifica della sensibilità dichiarata del lisato.

Tabella 2.6.14.-2.

Soluzione	Concentrazione di endotossina/Soluzione alla quale è stata aggiunta l'endotossina	Numero di ripetizioni
A	Nessuna/Soluzione in esame diluita	2
B	2λ/Soluzione in esame diluita	2
C	2λ/Acqua SEB	2
D	Nessuna/Acqua SEB	2

Endotossine batteriche

Preparare la soluzione A e la soluzione B (controllo positivo del prodotto) usando una diluizione non superiore alla MDV e trattare come descritto in 1. Saggi preliminari (ii) Saggio per i fattori interferenti. Le soluzioni B e C (controlli positivi) contengono l'endotossina standard ad una concentrazione corrispondente al doppio della sensibilità dichiarata del lisato. La soluzione D (controllo negativo) è costituita da acqua SEB.

(ii) Interpretazione

Il saggio è valido solo se entrambi le ripetizioni delle due soluzioni B e C di controllo positivo sono positive e quelle della soluzione D di controllo negativo sono negative.

La preparazione in esame soddisfa al saggio se si ottiene un risultato negativo per entrambe le ripetizioni della soluzione A.

Quando si ottiene un risultato positivo per entrambi gli esemplari della soluzione A:

- essa non soddisfa al saggio se la preparazione in esame è diluita alla MDV;

- il saggio si ripete ad una diluizione più elevata ma non superiore alla MDV se la preparazione in esame è diluita ad una diluizione inferiore alla MDV.

Ripetere il saggio se si ottiene un risultato positivo per un esemplare della soluzione A ed un risultato negativo per l'altro esemplare. La preparazione in esame soddisfa al saggio se, nella ripetizione del saggio, si ottiene un risultato negativo per entrambi gli esemplari della soluzione A.

3. SAGGIO SEMI-QUANTITATIVO (METODO B)

(i) Procedura

Il saggio quantifica le endotossine batteriche nella soluzione in esame mediante titolazione al punto finale. Preparare le soluzioni A, B, C e D come indicato nella tabella 2.6.14.-3 ed esaminare queste soluzioni secondo la procedura descritta in 1. Saggi preliminari (i) Verifica della sensibilità dichiarata del lisato.

Tabella 2.6.14.-3.

Soluzione	Concentrazione di endotossina/ Soluzione alla quale è aggiunta l'endotossina	Diluente	Fattore di diluizione	Concentrazione iniziale di endotossina	Numero di ripetizioni
A	Nessuna/Soluzione in esame	Acqua SEB	1	—	2
			2		2
			4		2
			8		2
B	2λ/Soluzione in esame	—	1	2λ	2
C	2λ/Acqua SEB	Acqua SEB	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0,5λ	2
			8	0,25λ	2
D	Nessuna/Acqua SEB	—	—	—	2

Soluzione A = soluzione in esame, ad una diluizione non superiore alla MDV, con la quale è stato effettuato il saggio per i fattori interferenti. Le diluizioni successive della soluzione in esame non devono essere superiori alla MDV. Usare acqua SEB per allestire due serie di diluizioni di 1, 1/2, 1/4 e 1/8 rispetto alla diluizione con la quale è stato effettuato il saggio per i fattori interferenti. Se del caso possono essere usate altre diluizioni.

Soluzione B = soluzione A contenente l'endotossina standard ad una concentrazione 2λ (controllo positivo del prodotto).

Soluzione C = due serie di acqua SEB contenente l'endotossina standard ad una concentrazione di 2λ, λ, 0,5λ e 0,25λ.

Soluzione D = acqua SEB (controllo negativo).

(ii) Calcoli ed interpretazione

Il saggio è valido solo se si riscontrano le tre condizioni seguenti:

- entrambi gli esemplari della soluzione D (controllo negativo) sono negativi,
- entrambi gli esemplari della soluzione B (controllo positivo del prodotto) sono positivi,
- la media geometrica della concentrazione della soluzione C al punto finale è compresa tra $0,5\lambda$ e 2λ .

Per determinare la concentrazione di endotossina della soluzione A, calcolare la concentrazione al punto finale per ciascuna serie di ripetizioni moltiplicando per λ ciascun fattore di diluizione al punto finale.

La concentrazione di endotossina nella soluzione in esame è la media geometrica della concentrazione al punto finale delle due serie di diluizioni (vedere l'espressione riportata in 1. Saggi preliminari, (i) Verifica della sensibilità dichiarata del lisato). Se il saggio è effettuato con una soluzione in esame diluita, calcolare la concentrazione di endotossina nella soluzione iniziale moltiplicando il risultato per il fattore di diluizione.

Se nessuna delle diluizioni della soluzione in esame è positiva in un saggio valido, registrare la concentrazione di endotossina come inferiore a λ (o, se è sottoposto a saggio un campione diluito, come inferiore a $\lambda \times$ il fattore di diluizione più basso del campione). Se tutte le diluizioni sono positive, la concentrazione di endotossina è registrata come uguale o superiore al maggior fattore di diluizione moltiplicato per λ (per es. nella tabella 2.6.14.-3, il fattore di diluizione iniziale $\times 8 \times \lambda$).

La preparazione soddisfa i requisiti del saggio se la concentrazione di endotossina è inferiore a quella specificata nella singola monografia.

TECNICHE FOTOMETRICHE (METODI C, D, E ed F)**1. TECNICA TURBIDIMETRICA (METODI C e F)**

Questa tecnica è un saggio fotometrico per misurare l'aumento della torbidità. Questa tecnica, sulla base del principio di saggio impiegato, è classificata come un saggio di torbidità al punto finale o un saggio cinetico-turbidimetrico.

Il saggio turbidimetrico al punto finale (Metodo F) è basato sulla relazione quantitativa tra la concentrazione di endotossina e la torbidità (assorbanza o trasmissione) della miscela di reazione alla fine del periodo di incubazione.

Il saggio cinetico turbidimetrico (Metodo C) è un metodo per misurare il tempo (tempo di inizio) necessario alla miscela di reazione per raggiungere l'assorbanza predeterminata, o l'entità della torbidità sviluppata.

Il saggio si effettua alla temperatura di incubazione raccomandata dal produttore del lisato (generalmente 37 ± 1 °C).

2. TECNICA CROMOGENA (METODI D ed E)

Questa tecnica è usata per misurare la quantità di cromoforo rilasciato da un appropriato peptide cromogeno nella reazione dell'endotossina con il lisato. A seconda del principio di saggio impiegato questa tecnica è classificata come saggio cromogeno al punto finale o saggio cromogeno-cinetico.

Il saggio cromogeno al punto finale (Metodo E) è basato sulla relazione quantitativa tra la concentrazione di endotossina e la quantità di cromoforo rilasciata alla fine del periodo di incubazione.

Il saggio cromogeno-cinetico (Metodo D) misura il tempo (tempo di inizio) necessario alla miscela di reazione per raggiungere l'assorbanza predeterminata, o l'entità del colore sviluppato.

Il saggio si effettua alla temperatura di incubazione raccomandata dal produttore del lisato (generalmente 37 ± 1 °C).

3. SAGGI PRELIMINARI

Per assicurare la precisione o la validità dei saggi turbidimetrici o cromogeni, i saggi preliminari sono effettuati per assicurare che i criteri della curva di taratura siano soddisfatti e che la soluzione in esame non interferisca con il saggio.

La convalida del metodo di saggio è richiesta quando si apporta un qualsiasi cambiamento alle condizioni sperimentali che possono influenzare il risultato del saggio.

(i) Sicurezza dei criteri per la curva di taratura

Usare la soluzione di endotossina standard per preparare almeno tre soluzioni con concentrazioni diverse di endotossine per costruire la curva di taratura. Eseguire il saggio usando almeno tre ripetizioni di ciascuna soluzione di endotossina standard come raccomandato dal produttore del lisato (rapporti tra i volumi, tempo di incubazione, temperatura, pH ecc.).

Endotossine batteriche

Se nei metodi cinetici l'intervallo desiderato è superiore a 2 log, devono essere preparate ulteriori soluzioni standard per comprendere ciascun aumento logaritmico nell'intervallo della curva di taratura.

Il valore assoluto del coefficiente di correlazione, $|r|$, deve essere maggiore o uguale a 0,980 per l'intervallo di concentrazioni di endotossine indicato dal produttore del lisato.

(ii) Saggio per i fattori interferenti

Selezionare una concentrazione di endotossina alla metà o vicina alla metà della curva di taratura.

Preparare le soluzioni A, B, C e D come indicato nella Tabella 2.6.14.-4. Effettuare il saggio su almeno due esemplari doppi di queste soluzioni come raccomandato dal produttore del lisato (volume della soluzione in esame e soluzione del lisato, rapporto tra il volume della soluzione in esame e quello della soluzione in esame, tempo di incubazione, ecc.).

Calcolare il recupero medio dell'endotossina aggiunta sottraendo la concentrazione media di endotossina della soluzione (se presente) da quella della soluzione contenente l'endotossina aggiunta.

La soluzione in esame è considerata come esente da fattori interferenti se, nelle condizioni del saggio, la concentrazione misurata di endotossina aggiunta alla soluzione in esame è compresa tra il 50-200 per cento della

concentrazione nota di endotossina aggiunta, dopo sottrazione della endotossina rivelata nella soluzione alla quale non è stata aggiunta l'endotossina.

Quando il recupero di endotossina non è compreso tra gli intervalli specificati, i fattori interferenti devono essere eliminati come descritto nella sezione Tecnica di gelificazione al paragrafo 1. Saggi preliminari, (ii) Saggio per i fattori interferenti. L'efficienza del trattamento si verifica ripetendo il saggio per i fattori interferenti.

4. SAGGI

(i) Procedura

Seguire la procedura descritta in 3. Saggi preliminari, (ii) Saggio per i fattori interferenti.

(ii) Calcoli

Calcolare la concentrazione di endotossina di ciascuna ripetizione della soluzione A usando la curva di taratura costruita con le serie di controlli positivi della soluzione C.

Il saggio è valido solo se sono soddisfatti i tre requisiti seguenti:

- il risultato ottenuto con la soluzione D (controllo negativo) non supera il limite del valore richiesto per il bianco nella descrizione del lisato impiegato,
- i risultati ottenuti con le serie di controlli positivi, soluzione C, soddisfa ai requisiti per la convalida definiti in 3. Saggi preliminari, (i) Sicurezza dei criteri per la curva di taratura,

Tabella 2.6.14.-4

Soluzione	Concentrazione di endotossina	Soluzione alla quale è stata aggiunta l'endotossina	Numero di ripetizioni
A	Nessuna	Soluzione in esame	Non meno di 2
B	Concentrazione media della curva di taratura	Soluzione in esame	Non meno di 2
C	Almeno 3 concentrazioni (la concentrazione più bassa è λ)	Acqua SEB	Ciascuna concentrazione non meno di 2
D	Nessuna	Acqua SEB	non meno di 2

Soluzione A = soluzione in esame che può essere diluita ad una concentrazione non superiore alla MDV.

Soluzione B = preparazione in esame alla stessa diluizione della soluzione A, contenente l'endotossina aggiunta ad una concentrazione uguale o vicina alla metà della curva di taratura.

Soluzione C = soluzione di endotossina standard alla concentrazione usata nella convalida del metodo come descritto in 3. Saggi preliminari, (i) Sicurezza dei criteri per la curva di taratura (controlli positivi).

Soluzione D = acqua SEB (controllo negativo).

c) il recupero di endotossina, calcolata dalla concentrazione di endotossina trovata nella soluzione B dopo sottrazione della concentrazione di endotossina trovata nella soluzione A, è compreso nell'intervallo del 50-200 per cento.

(iii) Interpretazione

La preparazione in esame soddisfa al saggio se la concentrazione media di endotossina degli esemplari della soluzione A, dopo correzione per diluizione e concentrazione, non è inferiore al limite endotossinico del prodotto.

5. REATTIVI

(i) Soluzione del lisato

Disciogliere, agitando dolcemente, il lisato di amebociti in acqua SEB o in un tampone, come raccomandato dal produttore di lisato. Conservare il lisato ricostituito, raffreddato o congelato, come indicato dal produttore.

(ii) Lisato di amebociti

Il lisato di amebociti è un prodotto liofilizzato ottenuto dal lisato di amebociti di limulo (*Limulus polyphemus* o *Tachypleus tridentatus*). Questo reattivo si riferisce solo al prodotto fabbricato in accordo con i regolamenti dell'Autorità competente.

Il lisato di amebociti reagisce, oltre che con le endotossine, con alcuni β -glucani. Sono disponibili preparazioni di lisato di amebociti che non reagiscono con i glucani; esse sono preparate eliminando dal lisato di amebociti il fattore G che reagisce con i glucani, o inibendo il sistema di reazione del fattore G del lisato di amebociti. Queste preparazioni possono essere usate per il saggio delle endotossine in presenza di glucani.

(iii) Acqua SEB (acqua per il saggio delle endotossine batteriche)

L'acqua SEB è acqua per preparazioni iniettabili R o acqua prodotta con altre procedure che hanno dimostrato di non reagire con il lisato impiegato al limite di rivelazione del reattivo.

La sezione seguente si riporta solo come informazione.

SAGGIO DELLE ENDOTOSSINE BATTERICHE: LINEE GUIDA

1. INTRODUZIONE

Le endotossine prodotte da batteri gram-negativi sono la causa più comune delle reazioni tossiche attribuite alla contaminazione dei prodotti farmaceutici con pirogeni; la loro attività pirogena è più alta di quella di molte altre sostanze pirogene. Queste endotossine sono

lipopolisaccaridi. Benché esista un piccolo numero di pirogeni che hanno una struttura differente, la conclusione che l'assenza di endotossine batteriche nel prodotto implichi l'assenza di componenti pirogene è generalmente giustificata, purché possa essere esclusa la presenza di sostanze pirogene diverse dalle endotossine.

La presenza di endotossine in un prodotto può essere mascherata dalla esistenza di fattori interferenti nella reazione tra endotossine ed il lisato di amebociti. Quindi l'analista che desidera sostituire il saggio dei pirogeni su coniglio, richiesto in una monografia della farmacopea, con un saggio delle endotossine batteriche, deve aver dimostrato che questo saggio può essere effettuato in modo soddisfacente sul prodotto in questione; questo può implicare una procedura per l'eliminazione dei fattori di interferenza.

Come indicato nel saggio delle endotossine, prima che un saggio su un campione possa essere considerato valido devono essere disponibili informazioni sugli aspetti seguenti.

1.1. Si deve stabilire l'idoneità del materiale da usare nel saggio. Si deve assicurare l'assenza di endotossine nell'acqua SEB e negli altri reattivi e si deve verificare la sensibilità del lisato di amebociti dichiarata dal produttore.

1.2. Poiché il prodotto da esaminare può interferire con il saggio, la sensibilità del lisato di amebociti si determina in presenza e in assenza del prodotto in esame. Non vi deve essere alcuna differenza significativa tra i due valori di sensibilità.

Il saggio delle endotossine batteriche (2.6.14) indica i metodi per eliminare i fattori di interferenza; in caso di interferenza deve essere effettuato, dopo questo saggio, un altro saggio per verificare se l'interferenza sia stata effettivamente neutralizzata o eliminata.

Questa appendice espone le ragioni dei requisiti del saggio delle endotossine batteriche e poi tratta la lettura e l'interpretazione dei risultati.

La sostituzione del saggio dei pirogeni su coniglio, richiesto da una monografia della farmacopea, con un saggio con il lisato di amebociti implica l'uso di un metodo di analisi alternativo e quindi richiede la convalida; alcune linee guida sulla procedura sono riportate nella sezione 11.

Il metodo di riferimento per le endotossine batteriche è indicato nella monografia di un dato prodotto; se non è indicato alcun metodo, il metodo di riferimento è il metodo A. Se si usa un metodo diverso da quello di riferimento, l'analista deve dimostrare che il metodo è appropriato per questo prodotto e che fornisce un risultato concordante con quello ottenuto con il metodo di riferimento (vedi anche la Sezione 13).

2. METODO

L'aggiunta di endotossine al lisato di amebociti può provocare un intorbidamento, una precipitazione o una gelificazione; nella farmacoepa solo il metodo di gelificazione è usato come criterio di valutazione nel primo tipo di saggio per le endotossine batteriche. Il vantaggio è la semplicità di poter decidere se il prodotto in esame soddisfa o meno al saggio in base all'assenza o alla presenza di gelificazione visibile ad occhio nudo. I metodi quantitativi descritti, come i metodi C, D, E ed F, sono stati sviluppati successivamente; essi richiedono una maggiore strumentazione, ma sono più facili da automatizzare per il controllo di routine di un grande numero di campioni dello stesso prodotto.

Le endotossine possono essere adsorbite sulla superficie delle provette o delle pipette costruite con certi tipi di plastica o di vetro. Interferenze possono essere dovute anche al rilascio di sostanze dai materiali plastici. I materiali usati devono quindi essere verificati; i successivi lotti di provette o di pipette possono avere una composizione leggermente differente e quindi si consiglia all'analista di ripetere questi saggi ogni volta che si usano nuovi lotti di materiali.

La decisione di usare il saggio delle endotossine batteriche come saggio limite implica, prima di tutto, che sia definita una concentrazione limite di endotossina per il prodotto da sottoporre a saggio e, in secondo luogo, che l'obiettivo del saggio sia di stabilire se la concentrazione di endotossina nel prodotto in esame è al di sopra o al di sotto di questa soglia. I metodi quantitativi C, D, E ed F permettono di determinare la concentrazione di endotossine nel campione in esame ma, per la rispondenza alla farmacoepa e nel controllo di qualità di routine, la questione finale è se questa concentrazione supera o no un limite definito.

Nello stabilire una concentrazione limite di endotossina per il prodotto da sottoporre a saggio, si deve prestare la dovuta attenzione alla dose del prodotto: la soglia dovrebbe essere tale da assicurare che la concentrazione di endotossina nel prodotto rimanga nel tempo al di sotto di questa soglia, anche quando la dose massima per ora, somministrata attraverso la via di somministrazione prevista, non contenga endotossine in quantità sufficienti a causare una reazione tossica.

Quando la concentrazione di endotossina nel prodotto è esattamente uguale al valore limite, avviene la gelificazione, come nel caso in cui la concentrazione di endo-

tossina è di molto superiore ad esso ed il prodotto non soddisfa al saggio, poiché, trattandosi di un saggio del tipo «tutto o nulla», è impossibile differenziare tra una concentrazione esattamente uguale alla concentrazione soglia ed una più alta. Solo quando non si verifica una gelificazione l'analista può concludere che la concentrazione di endotossina non supera la concentrazione soglia.

Per i prodotti allo stato solido, questa concentrazione soglia di endotossine per unità di massa o per Unità Internazionale (U.I.) del prodotto deve essere trasformata in una concentrazione di endotossine per millilitro di soluzione da sottoporre a saggio, poiché il saggio può essere effettuato solo su una soluzione. Il caso di prodotti che si presentano sempre allo stato liquido (come i liquidi per infusione) è discusso più avanti.

Limite di endotossina: il limite di endotossina per le sostanze attive somministrate per via parenterale, definito sulla base della dose, è uguale a

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

K = dose soglia di endotossina avente un effetto pirogeno per chilogrammo di massa corporea e per ora,

M = dose massima raccomandata di prodotto per chilogrammo di massa corporea e per ora.

Il limite di endotossina dipende dal prodotto e dalla sua via di somministrazione ed è indicato nella monografia. Valori di K sono riportati nella tabella 2.6.14.-5.

Per le altre vie di somministrazione il criterio di accettabilità per le endotossine batteriche è generalmente determinato sulla base dei risultati ottenuti durante lo sviluppo della preparazione.

Tabella 2.6.14.-5.

Via di somministrazione	K (U.I. di endotossina per chilogrammo di massa corporea e per ora)
Endovenosa	5,0
Endovenosa, per radiofarmaci	2,5
Intratecale	0,2

Quale diluizione del prodotto deve essere usata nel saggio per ottenere la massima sicurezza che un risultato negativo significa che la concentrazione di endotossina del prodotto è inferiore al limite di endotossina e che un risultato positivo significa che il lisato rivela una concentrazione di endotossina uguale o superiore al limite di endotossina? Questa diluizione dipende dal

limite di endotossina e dalla sensibilità del lisato: è definita come Massima Diluizione Valida e il suo valore può essere calcolato come segue:

$$MDV = \frac{\text{limite di endotossina} \times \text{concentrazione della soluzione in esame}}{\lambda}$$

Concentrazione della soluzione in esame:

- in mg/ml se il limite di endotossina è specificato rispetto alla massa (U.I./mg),
- in Unità/ml se il limite di endotossina è specificato rispetto alle unità di attività biologica (U.I./Unità),
- in ml/ml se il limite di endotossina è specificato rispetto al volume (U.I./ml).

λ = la sensibilità del lisato indicata nella tecnica di gelificazione (U.I./ml) o il punto più basso usato nella curva di taratura della tecnica turbidimetrica o della tecnica cromogena.

Quando il valore della massima diluizione valida non è un numero intero, per i controlli di routine può essere usato un appropriato numero intero più piccolo della MDV (il che significa preparare una soluzione del prodotto meno diluita di quanto indichi la MDV). In questo caso un risultato negativo indica che la concentrazione è inferiore al valore limite. D'altra parte il saggio può essere positivo quando la concentrazione di endotossina del prodotto è inferiore al limite di endotossina, ma comunque alta, in modo che la reazione con il lisato produce gelificazione. Quindi, quando un saggio con questo «appropriato» fattore di diluizione è positivo, il prodotto deve essere diluito alla MDV ed il saggio deve essere ripetuto. In qualsiasi caso di dubbio o di disputa deve essere usata la MDV.

Questo sottolinea l'importanza della verifica della sensibilità del lisato.

Esempio

Sottoporre a saggio una soluzione di fenitoina sodica contenente 50 mg/ml (destinata alla somministrazione endovenosa). Determinare la MDV date le seguenti variabili:

M = dose umana massima = 15 mg per chilogrammo di massa corporea e per ora,

c = 50 mg/ml,

K = 5 U.I. di endotossina per chilogrammo di massa corporea e per ora,

λ = 0,4 U.I. di endotossina per millilitro.

$$MDV = \frac{5 \times 50}{15} \times \frac{1}{0,4} = 41,67$$

Un espediente per i saggi di routine su questo prodotto, può essere la diluizione di 1 ml della soluzione in esame a 20 ml (MDV/2 arrotondato al numero intero immediatamente inferiore). Comunque se questo saggio è positivo, l'analista deve diluire 1 ml a 41,67 ml e ripetere il saggio. Sarà necessario preparare una diluizione 1 : 41,67 anche quando il saggio viene eseguito per risolvere una disputa.

3. MATERIALE DI RIFERIMENTO

L'*Endotossina standard PBR* è destinata all'uso come preparazione di riferimento. Essa è stata titolata in confronto con lo Standard Internazionale di Endotossina dell'O.M.S. e la sua attività biologica è espressa in Unità Internazionali di endotossina per fiala. L'Unità Internazionale di endotossina è definita come l'attività specifica di una massa definita dello Standard Internazionale.

Per i controlli di routine può essere usata un'altra preparazione di endotossina purché sia stata titolata in confronto con lo Standard Internazionale di Endotossina o la PBR e la sua attività biologica sia espressa in Unità Internazionali di endotossina.

NOTA: una Unità Internazionale (U.I.) di endotossina è uguale ad una Unita Endotossinica (U.E.).

4. ACQUA SEB

La verifica dell'assenza di endotossine in questo reattivo mediante una tecnica derivata dal saggio dei pirogeni su coniglio è stata abbandonata per ragioni pratiche e teoriche:

- 4.1 il saggio sul coniglio non è abbastanza sensibile per rivelare le endotossine nell'acqua SEB destinata ai saggi sui prodotti con un bassissimo limite di endotossine;
- 4.2 la precisione relativamente bassa della risposta basata sull'innalzamento della temperatura del coniglio richiede molte ripetizioni del saggio sul coniglio;
- 4.3 i termini «pirogeni» ed «endotossine» si riferiscono a gruppi di entità che non coincidono completamente.

Nel testo del saggio delle endotossine batteriche è riportato che si possono usare metodi diversi dalla distillazione tripla per preparare l'acqua SEB. L'osmosi inversa è stata usata con buoni risultati; alcuni analisti preferiscono distillare l'acqua più di tre volte. Qualunque sia il metodo usato, il prodotto risultante deve essere esente da endotossine rivelabili.

5. pH DELLA MISCELA

Nel saggio delle endotossine batteriche si verifica una gelificazione ottimale per una miscela a pH 6,0-8,0. Comunque, l'aggiunta del lisato al campione può provocare una diminuzione del pH.

6. CONVALIDA DEL LISATO

E' importante seguire le istruzioni del produttore per preparare le soluzioni di lisato.

Nei metodi di gelificazione A e B i fattori di diluizione al punto finale che forniscono un risultato positivo sono convertiti in logaritmi. Il motivo è che se si riporta in un grafico la distribuzione della frequenza di questi valori logaritmici si ottiene una curva molto più simile ad una curva normale della distribuzione che alla distribuzione della frequenza dei fattori di diluizione stessi; infatti è così tanto simile che si accetta di usare come modello matematico la distribuzione normale della frequenza e di calcolare i limiti fiduciali con il saggio *t* di Student.

7. SAGGIO PRELIMINARE PER I FATTORI INTERFERENTI

Alcuni prodotti non possono essere sottoposti direttamente a saggio per evidenziare la presenza di endotossine perché non sono miscibili con i reattivi, perché il pH non può essere portato a 6,0-8,0, o perché inibiscono o attivano la formazione del gel. In questo caso è richiesto un saggio preliminare per verificare la presenza di fattori di interferenza; quando questi sono riscontrati, l'analista deve dimostrare che la procedura usata per rimuoverli è efficace.

L'obiettivo del saggio preliminare è di determinare l'ipotesi nulla, cioè che la sensibilità del lisato in presenza del prodotto in esame non differisce significativamente dalla sensibilità del lisato in assenza del prodotto. Nei metodi A e B viene usato un criterio semplice: l'ipotesi nulla è accettata quando la sensibilità del lisato, in pre-

senza del prodotto da esaminare, non è inferiore a metà e non superiore al doppio della sensibilità del lisato stesso.

L'approccio classico sarebbe stato quello di determinare la sensibilità del lisato in presenza e in assenza del prodotto, calcolando in ciascun caso la media del logaritmo dei fattori di diluizione, e di verificare la differenza tra le due medie con il saggio *t* di Student.

Il saggio per i fattori interferenti nei metodi di gelificazione A e B richiede l'uso di campioni del prodotto nei quali non siano rivelabili endotossine. Questo rappresenta un problema teorico quando si deve sottoporre a saggio un prodotto completamente nuovo. Quindi un diverso approccio è stato adottato per i metodi quantitativi C, D, E ed F.

8. ELIMINAZIONE DEI FATTORI INTERFERENTI

Le procedure per eliminare i fattori interferenti non devono aumentare o ridurre (per es. per adsorbimento) la quantità di endotossine nel prodotto in esame. La via corretta per verificare questo è di applicare le procedure ad un campione «arricchito» del prodotto, cioè a un campione al quale è stata aggiunta una quantità nota di endotossina, e quindi di misurare l'endotossina recuperata.

Metodi C e D. Se la natura del prodotto da analizzare presenta un'interferenza che non può essere eliminata mediante i metodi classici, è possibile realizzare la curva di taratura sullo stesso tipo di prodotto reso esente dalle endotossine mediante un appropriato trattamento o per diluizione del prodotto. Il saggio delle endotossine è effettuato mediante confronto con questa curva di taratura.

L'ultrafiltrazione con filtri a membrana asimmetrica in cellulosa triacetato descritta nel saggio si è dimostrata adeguata nella maggioranza dei casi. I filtri devono essere convenientemente convalidati, perché in alcune circostanze i derivati della cellulosa (β -D-gluconi) possono causare risultati falsamente positivi.

I filtri in polisolfone si sono rivelati non appropriati perché alcuni utilizzatori hanno ottenuto risultati falsamente positivi.

9. SCOPO DEI CONTROLLI

Lo scopo di un controllo preparato con acqua SEB e la preparazione di riferimento di endotossina con una

concentrazione doppia rispetto alla sensibilità dichiarata del lisato è di verificare l'attività del lisato al momento e nelle condizioni del saggio. Lo scopo di un controllo negativo è di verificare l'assenza di una concentrazione rilevabile di endotossina nell'acqua SEB.

Il controllo positivo, che contiene il prodotto da esaminare alla concentrazione usata nel saggio, è destinato a dimostrare l'assenza di fattori inibenti al momento e nelle condizioni del saggio.

10. LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Può accadere che piccolissime quantità di endotossina nell'acqua SEB o in qualsiasi altro reattivo o materiale al quale il lisato è esposto durante il saggio, possano sfuggire alla rivelazione perché inferiori al limite di sensibilità del lisato. Tuttavia esse possono aggiungersi alle endotossine presenti nella soluzione contenente il prodotto sottoposto al saggio in modo che la quantità totale di endotossine presenti raggiunga il limite di sensibilità e provochi una reazione positiva.

Il rischio che questo possa accadere può essere ridotto sottoponendo a saggio l'acqua SEB e gli altri reattivi e materiali usando il lisato più sensibile disponibile o almeno usandone uno più sensibile di quello impiegato nel saggio sul prodotto. Tuttavia anche in questo caso il rischio di un saggio falsamente positivo non può essere eliminato completamente. Si deve sottolineare che questo piano di saggio offre tutte le garanzie di sicurezza, contrariamente ad altri piani che potrebbero portare a risultati falsamente negativi e in questo modo condurre al rilascio di un prodotto rischioso per la salute dei pazienti.

11. SOSTITUZIONE DEL SAGGIO DEI PIROGENI SU CONIGLIO CON UN SAGGIO DELLE ENDOTOSSINE BATTERICHE

Le monografie di prodotti farmaceutici destinati alla somministrazione parenterale che possono contenere quantità tossiche di endotossine batteriche richiedono il saggio delle endotossine batteriche o il saggio dei pirogeni su coniglio. Come politica generale:

11.1. Quando in una monografia è richiesto un saggio, è riportato solo un tipo di saggio o quello dei pirogeni oppure quello delle endotossine batteriche.

11.2. In mancanza della dimostrazione del contrario, il saggio per le endotossine batteriche è preferito rispetto al saggio dei pirogeni perché, generalmente, si ritiene che fornisca una protezione uguale o migliore per il paziente.

11.3. Prima di introdurre un saggio delle endotossine batteriche in una monografia, si deve dimostrare che uno dei saggi descritti nel capitolo 2.6.14 possa essere applicato soddisfacentemente al prodotto in esame.

11.4. Le informazioni necessarie sono fornite dai produttori. I produttori sono invitati a fornire tutti i dati di convalida che hanno sull'applicabilità del saggio delle endotossine batteriche alle sostanze ed alle preparazioni di interesse. Questi dati comprendono la preparazione del campione e ogni procedura necessaria ad eliminare i fattori interferenti. Inoltre deve essere fornito qualsiasi dato disponibile per un saggio in parallelo sui pirogeni che può contribuire o stabilire che la sostituzione del saggio dei pirogeni su coniglio con quello delle endotossine batteriche è appropriata.

Ulteriori requisiti sono definiti nelle sezioni seguenti.

12. USO DI UN SAGGIO DELLE ENDOTOSSINE BATTERICHE DIVERSO DA QUELLO PRESCRITTO NELLA MONOGRAFIA

Quando in una monografia è prescritto un saggio per le endotossine batteriche ma non è specificato quale dei sei metodi (A-F) descritti nel capitolo 2.6.14, significa che il metodo A, il saggio limite del metodo di gelificazione, è convalidato per il prodotto considerato. Se è specificato uno degli altri metodi (B-F) questo è quello convalidato per il prodotto.

13. CONVALIDA DI METODI ALTERNATIVI

La sostituzione del saggio dei pirogeni su coniglio con un saggio delle endotossine batteriche o la sostituzione del metodo delle endotossine batteriche indicato o usato con un altro metodo, deve essere considerata come l'uso di metodi alternativi in sostituzione di un saggio di Farmacopea così come descritto nelle Prescrizioni Generali:

«I saggi e i dosaggi descritti sono metodi ufficiali a partire dai quali sono basate le norme della Farmacopea. Con l'accordo dell'Autorità competente possono essere usati, ai fini del controllo, metodi

analitici alternativi, a condizione che tali metodi permettano, senza equivoci, di decidere che le norme delle monografie sarebbero soddisfatte qualora fossero usati i metodi ufficiali. In caso di dubbio o di disputa, i metodi di analisi della Farmacopea sono i soli riconosciuti validi.»

Le procedure seguenti sono suggerite per la convalida di un metodo per le endotossine batteriche diverso da quello indicato o usato nella monografia.

- 13.1. La procedura, i materiali ed i reattivi usati nel metodo dovrebbero essere convalidati come descritto nel saggio in questione.
- 13.2. La presenza di fattori interferenti (e, se necessario, la procedura per eliminarli) deve essere sottoposta a saggio su almeno tre campioni dei lotti di produzione. Si deve sottolineare che i metodi D ed E usano un peptide cromogeno e richiedono reattivi che non sono presenti nei metodi A, B, C ed F e quindi non è possibile effettuare, senza ulteriori saggi, l'estrapolazione per il metodo D o il metodo E dei risultati relativi ai fattori interferenti ottenuti con i metodi A, B, C o F.

14. CONVALIDA DEL SAGGIO PER I NUOVI PRODOTTI

Le procedure descritte nei paragrafi 13.1 e 13.2 dovrebbero essere applicate a tutti i nuovi prodotti destinati all'uso parenterale che devono essere sottoposti a saggio per evidenziare la presenza di endotossine batteriche secondo i requisiti della Farmacopea.

2.6.15. ATTIVATORE DELLA PRECALLICREINA

L'attivatore della precallicreina (PKA) attiva la precallicreina in callicreina e può essere dosato in base alla sua capacità di scindere un cromoforo da un substrato peptidico sintetico così che la velocità di scissione può essere misurata per via spettrofotometrica e la concentrazione di PKA si calcola per confronto con una preparazione di riferimento titolata in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale è l'attività di una quantità definita dello Standard Internazionale, che è costituito da attivatore della precallicreina liofilizzato. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'O.M.S.

REATTIVI

Attivatore della precallicreina in albumina PBR è titolato in Unità Internazionali per confronto con lo Standard Internazionale.

Tampone A. Disciogliere 6,055 g di *tris(idrossimetil)-amminometano R*, 1,17 g di *sodio cloruro R*, 50 mg di *esadimetrina bromuro R* e 0,100 g di *sodio azide R* in *acqua R*. Correggere il pH a 8,0 con *acido cloridrico 2MR* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Tampone B. Disciogliere 6,055 g di *tris(idrossimetil)-amminometano R*, 8,77 g di *sodio cloruro R*, in *acqua R*. Correggere il pH a 8,0 con *acido cloridrico 2M* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

PREPARAZIONE DEL SUBSTRATO PRECALLICREINICO

Per evitare l'attivazione della coagulazione, il sangue o il plasma utilizzati per la preparazione della precallicreina devono venire in contatto solo con superfici di plastica o di vetro siliconato.

Prelevare 9 volumi di sangue umano per 1 volume di soluzione anticoagulante [ACD, CPD o una soluzione (38 g/l) di *sodio citrato R*] al quale è stato aggiunto 1 mg per millilitro di *esadimetrina bromuro R*. Centrifugare la miscela a 3600 g per 5 min. Separare il plasma e centrifugare ancora a 6000 g per 20 min per far sedimentare le piastrine. Separare il plasma depauperato delle piastrine e dializzarlo contro 10 volumi di tampone A per 20 h. Depositare il plasma dializzato su una colonna cromatografica, contenente *agarosio-DEAE per cromatografia a scambio ionico R* che è stato equilibrato con il tampone A ed il cui volume è uguale al doppio del volume di plasma. Eluire con il tampone A ad un flusso di 20 ml/cm²/h. Raccogliere l'eluato in frazioni e registrare l'assorbanza a 280 nm (2.2.25). Riunire le frazioni contenenti il primo picco di proteine in modo che il volume riunito sia circa 1,2 volte il volume del plasma depauperato di piastrine.

Sottoporre a saggio il substrato riunito per verificare l'assenza di attività callicreinica mescolando 1 parte con 20 parti della soluzione del substrato cromogeno preriscaldata da usare nel dosaggio ed incubare a 37 °C per 2 min. Il substrato è idoneo se l'aumento dell'assorbanza è inferiore a 0,001 per minuto. Aggiungere alla miscela 7 g per litro di *sodio cloruro R* e filtrare usando una membrana filtrante (porosità 0,45 µm).

Congelare il filtrato in aliquote e conservare a -25 °C; il substrato può essere liofilizzato prima della conservazione.

Eseguire tutte le procedure dall'inizio della cromatografia al congelamento in aliquote durante un'unica seduta di lavoro.

DOSAGGIO

Il dosaggio si effettua usando preferibilmente un analizzatore enzimatico automatico o un sistema di piastre di microtitolazione appropriato che consente di effettuare misure di cinetica con un appropriato software per calcolare i risultati. Gli standard, i campioni e il substrato precallicreïnico possono essere diluiti, se necessario, con il tampone B.

Incubare gli standard o i campioni diluiti per 10 min con il substrato precallicreïnico in modo che il volume del campione non diluito non superi 1/10 del volume totale della miscela di incubazione per evitare errori causati da variazioni della forza ionica e del pH della miscela di incubazione. Incubare la miscela o una parte di essa con almeno un volume uguale di una soluzione di un appropriato substrato cromogeno sintetico specifico per la callicreina (per es. *N-benzoil-L-prolil-L-fenilalanil-L-arginina-4-nitroanilide acetato R* oppure *D-prolil-L-fenilalanil-L-arginina-4-nitroanilide dicloridrato R*) disciolto nel tampone B. Registrare la velocità di cambiamento dell'assorbanza per minuto per un periodo di 2-10 min, alla lunghezza d'onda specifica per il substrato utilizzato. Preparare un bianco per ciascuna miscela del campione o dello standard usando il tampone B al posto del substrato precallicreïnico.

A seconda del metodo utilizzato correggere il $\Delta A/\text{min}$ sottraendo il valore ottenuto al bianco corrispondente. I risultati possono essere calcolati usando una curva di taratura per il modello a linee parallele o a rapporto di pendenza o un altro metodo statistico appropriato. Tracciare una curva di taratura utilizzando i valori ottenuti con la preparazione di riferimento e le rispettive concentrazioni; usare la curva per determinare l'attività PKA della preparazione da esaminare.

2.6.16. SAGGIO PER GLI AGENTI ESTRANEI NEI VACCINI VIRALI PER USO UMANO

Nei saggi che richiedono una neutralizzazione preliminare del virus, usare anticorpi specifici che non siano di origine umana o di scimmia; se il virus è stato coltivato su tessuti aviari, gli anticorpi non devono essere

di origine aviaria. Per preparare i sierimmuni, utilizzare un antigene immunizzante prodotto in colture cellulari provenienti da una specie differente da quella utilizzata per la produzione del vaccino ed esente da agenti estranei. Quando si prescrive l'uso di uova EOPS, esse sono ottenute da un allevamento esente da patogeni specificati (5.2.2).

LOTTO DI SEMENZA VIRALE

Prelevare i campioni del lotto di semenza virale al momento della raccolta e, se non vengono immediatamente sottoposti a saggio, conservarli ad una temperatura inferiore a -40 °C.

Topi adulti. Inoculare ciascuno di almeno dieci topi adulti, di 15-20 g, con 0,03 ml del lotto di semenza virale, per via intracerebrale, e con 0,5 ml per via intraperitoneale. Osservare gli animali per almeno 21 giorni. Effettuare l'autopsia di tutti gli animali che muoiono dopo le prime 24 h del saggio o che presentano sintomi di malattia ed esaminarli al fine di accertare i segni di infezione virale sia tramite l'osservazione macroscopica diretta, sia tramite l'inoculazione di appropriate sospensioni di tessuto, per via intracerebrale ed intraperitoneale, in almeno altri cinque topi, che si tengono in osservazione per 21 giorni. Il lotto di semenza virale soddisfa al saggio se nessun topo presenta segni evidenti di infezione attribuibili alla semenza virale. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento dei primi topi inoculati sopravvive al periodo di osservazione.

Topi lattanti. Inoculare ciascuno di almeno venti topi, di età inferiore a 24 h con 0,01 ml del lotto di semenza virale, per via intracerebrale, e con almeno 0,1 ml per via intraperitoneale. Osservare gli animali giornalmente per almeno 14 giorni. Effettuare l'autopsia di tutti gli animali che muoiono dopo le prime 24 h del saggio o che presentano sintomi di malattia ed esaminarli al fine di accertare i segni di infezione virale sia mediante l'osservazione macroscopica diretta sia mediante l'inoculazione di appropriate sospensioni di tessuto, per via intracerebrale ed intraperitoneale, in almeno altri cinque topi, che si tengono in osservazione per 14 giorni. Il lotto di semenza virale soddisfa al saggio se nessun topo presenta segni evidenti di infezione attribuibili al lotto di semenza virale. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento dei primi topi inoculati sopravvive al periodo di osservazione.

Cavie. Inoculare per via intraperitoneale ciascuna di almeno cinque cavie, di 350-450 g, con 5,0 ml del lotto

di semenza virale. Osservare gli animali per almeno 42 giorni per identificare i sintomi di malattia. Effettuare l'autopsia di tutti gli animali che muoiono dopo le prime 24 h del saggio o che presentano sintomi di malattia e sottoporli ad esame macroscopico; esaminare i tessuti al microscopio e mediante coltura per evidenziare segni di infezione. Sacrificare gli animali che sopravvivono al periodo di osservazione ed esaminarli in modo analogo. Il lotto di semenza virale soddisfa al saggio se nessuna cavia presenta segni evidenti di infezione attribuibile al lotto di semenza virale. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento delle cavie sopravvive al periodo di osservazione.

LOTTO DI SEMENZA VIRALE E RACCOLTE VIRALI

Prelevare i campioni al momento della raccolta e, se non vengono immediatamente sottoposti a saggio, conservarli ad una temperatura inferiore a - 40 °C.

Sterilità batterica e fungina. Un campione di 10 ml soddisfa al saggio di sterilità (2.6.1).

Micoplasmi. Un campione di 10 ml soddisfa al saggio per i micoplasmi (2.6.7).

Micobatteri (2.6.2). Un campione di 5 ml è sottoposto a saggio per la presenza di *Mycobacterium* spp. mediante metodi di coltura riconosciuti sensibili per la rilevazione di questi microrganismi.

Saggio in colture cellulari per gli altri agenti estranei. Sottoporre a saggio campioni corrispondenti, salvo diversa indicazione, a 500 dosi umane di vaccino o 50 ml, se questa quantità è superiore alla prima, per evidenziare la presenza di agenti estranei mediante inoculazione in colture cellulari continue di rene di scimmia e di cellule umane. Se il virus è coltivato in cellule diploidi umane, sottoporre a saggio la raccolta virale neutralizzata, anche in un'altra coltura di cellule diploidi. Se il virus vaccinale è coltivato in un sistema cellulare di una specie diversa dalla scimmia o dall'uomo, inoculare anche cellule di questa specie ma di un altro lotto. Incubare le cellule a 36 ± 1 °C e tenerle in osservazione per un periodo di 14 giorni. Il lotto di semenza virale o la raccolta soddisfano al saggio se nessuna coltura cellulare mostra segni della presenza di agenti estranei non attribuibili ad una contaminazione accidentale. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento delle colture cellulari rimangono vitali.

Virus aviari (saggio richiesto solo se il virus è coltivato su tessuti aviari). Neutralizzare un campione equivalente a 100 dosi umane o 10 ml se superiore. Usando 0,5 ml

per uovo, inoculare per via allantoidea, un gruppo di uova embrionate EOPS di 9-11 giorni ed un secondo gruppo di uova embrionate EOPS di 5-7 giorni nel sacco vitellino. Incubare le uova per 7 giorni. Il lotto di semenza virale o la raccolta soddisfano al saggio se i fluidi allantoidei e vitellinici non mostrano segni della presenza di qualsiasi agente emoagglutinante e se tutti gli embrioni e le membrane corio-allantoiche, esaminate per evidenziare qualunque patologia macroscopica, sono normali. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento delle uova inoculate sopravvive durante i 7 giorni.

COLTURE CELLULARI USATE PER LA PRODUZIONE: CELLULE DI CONTROLLO

Esaminare al microscopio le cellule di controllo per verificare l'assenza di qualsiasi virus capace di causare degenerazione citopatica durante il periodo di incubazione delle colture cellulari inoculate usate per la produzione; oppure per un periodo non inferiore a 14 giorni dal momento dell'inoculo delle colture cellulari usate per la produzione scegliendo il più lungo dei due periodi. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento delle cellule di controllo sopravvive alla fine del periodo di osservazione.

Al 14° giorno o al momento dell'ultima raccolta virale, scegliendo il più lungo dei due periodi, effettuare i saggi descritti di seguito.

Saggio per i virus emoadsorbenti. Esaminare almeno il 25 per cento delle colture di controllo per evidenziare la presenza di virus emoadsorbenti mediante l'aggiunta di eritrociti di cavia. Se gli eritrociti di cavia sono stati conservati, la conservazione non deve durare più di 7 giorni, ad una temperatura di 5 ± 3 °C. Effettuare la lettura su una metà delle colture dopo incubazione a 5 ± 3 °C per 30 min, e sull'altra metà dopo incubazione a 20-25 °C per 30 min. Non deve essere riscontrata la presenza di agenti emoadsorbenti.

Saggio in colture cellulari per gli altri agenti estranei. Riunire i fluidi sopranatanti delle cellule di controllo ed esaminare per evidenziare la presenza di agenti estranei mediante inoculo di colture di cellule di rene di scimmia e di cellule umane. Se il virus vaccinale è coltivato in un sistema cellulare di specie diversa dalla scimmia o dall'uomo, inoculare anche cellule di questa specie ma di un altro lotto. In ciascun sistema cellulare sottoporre a saggio almeno 5 ml. Incubare le colture inoculate ad una temperatura di 36 ± 1 °C e osservarle per un periodo di 14 giorni. Non deve essere riscontrata la presenza di agenti estranei.

Se la coltura cellulare usata per la produzione è mantenuta ad una temperatura diversa da 36 ± 1 °C, si effet-

tua un saggio supplementare per gli agenti estranei alla temperatura di produzione usando lo stesso tipo di cellule utilizzate per la crescita del virus.

Virus della leucosi aviaria (saggio richiesto solo se il virus è coltivato su tessuti aviari). Effettuare il saggio per i virus della leucosi aviaria usando 5 ml del liquido sopranatante delle cellule di controllo.

UOVA DI CONTROLLO

Agenti emoagglutinanti. Esaminare 0,25 ml di liquido allantoideo di ogni uovo per evidenziare la presenza di agenti emoagglutinanti mediante mescolamento diretto con eritrociti di pollo e dopo un passaggio su uova EOPS effettuato nel modo seguente. Inoculare un campione di 5 ml della miscela dei liquidi amniotici delle uova di controllo, in ragione di 0,5 ml, nella cavità allantoidea e nella cavità amniotica di uova EOPS. Le uova di controllo soddisfano al saggio se non viene riscontrata la presenza di agenti emoagglutinanti in entrambi i saggi.

Virus della leucosi aviaria. Usare un campione di 10 ml della miscela dei liquidi amniotici delle uova di controllo. Effettuare un'amplificazione mediante cinque passaggi su colture cellulari di embrione di pollo esenti da leucosi; effettuare il saggio della leucosi aviaria usando cellule del quinto passaggio. Le uova di controllo soddisfano al saggio se non viene riscontrata la presenza di virus della leucosi aviaria.

Altri agenti estranei. Inoculare campioni di 5 ml della miscela di liquidi amniotici delle uova di controllo in colture di cellule umane o di scimmia. Osservare le colture cellulari per 14 giorni. Le uova di controllo soddisfano al saggio se non viene riscontrata la presenza di agenti estranei. Il saggio è valido solo se l'80 per cento delle colture inoculate sopravvive alla fine del periodo di osservazione.

2.6.17. ATTIVITÀ ANTICOMPLEMENTARE DELL'IMMUNOGLOBULINA

Per la determinazione dell'attività anticomplementare (ACA) dell'immunoglobulina, incubare una quantità definita del prodotto in esame (10 mg di immunoglobulina) con una quantità definita di complemento di cavia (20 CH₅₀) e titolare il complemento residuo; l'attività anticomplementare è espressa come consumo percentuale di complemento in rapporto al complemento di controllo considerato come 100 per cento.

L'unità emolitica di attività complementare (CH₅₀) è la quantità di complemento che, nelle condizioni di reazione adottate, provoca la lisi di $2,5 \times 10^8$, su un totale di 5×10^8 , globuli rossi sensibilizzati in maniera ottimale.

Soluzione madre di calcio e magnesio. Disciogliere 1,103 g di calcio cloruro R e 5,083 g di magnesio cloruro R in acqua R e diluire a 25 ml con lo stesso solvente.

Tampone barbital soluzione madre. Disciogliere 207,5 g di sodio cloruro R e 25,48 g di barbital sodico R in 4000 ml di acqua R e aggiustare il pH a 7,3 con acido cloridrico 1 M. Aggiungere 12,5 ml di soluzione madre di calcio e magnesio e diluire a 5000 ml con acqua R. Filtrare attraverso un filtro a membrana (dimensione dei pori 0,22 µm). Conservare a 4 °C in recipienti di vetro.

Soluzione di gelatina. Disciogliere 12,5 g di gelatina R in circa 800 ml di acqua R e scaldare funo ad ebollizione a b.m. Raffreddare a 20 °C e diluire a 10 litri con acqua R. Filtrare attraverso un filtro a membrana (dimensione dei pori 0,22 µm). Conservare a 4 °C. Usare solo soluzioni limpide.

Soluzione di citrato. Disciogliere 8,0 g di sodio citrato R, 4,2 g di sodio cloruro R e 20,5 g di glucosio R in 750 ml di acqua R. Aggiustare il pH a 6,1 usando una soluzione (100 g/l) di acido citrico R e diluire a 1000 ml con acqua R.

Soluzione tampone gelatina-barbital. Aggiungere 4 volumi della soluzione di gelatina a 1 volume della soluzione madre di tampone barbital e mescolare. Aggiustare il pH a 7,3, se necessario, utilizzando sodio idrossido 1 M o acido cloridrico 1 M. Conservare a 4 °C. Preparare ogni giorno una nuova soluzione.

Sangue di pecora stabilizzato. Raccogliere un volume di sangue di pecora in un volume di soluzione di citrato e mescolare. Conservare a 4 °C per almeno 7 giorni e per non più di 28 giorni. (Sangue di pecora o globuli rossi di pecora stabilizzati sono disponibili in commercio).

Emolisina. Antisiero nei confronti dei globuli rossi di pecora preparato su coniglio. (Questi antisieri sono disponibili in commercio).

Complemento di cavia. Preparare una miscela di siero di cavia, proveniente da almeno dieci animali. Separare il siero dal coagulo mediante centrifugazione a circa 4 °C. Conservare il siero in piccole quantità ad una temperatura inferiore a -70 °C.

METODO

Preparazione della sospensione standardizzata di globuli rossi di pecora al 5 per cento. Separare i globuli rossi di pecora centrifugando un volume adeguato di sangue di pecora stabilizzato, lavare le cellule almeno tre volte con la soluzione tampone gelatina-barbital e preparare

Attività anticomplementare dell'immunoglobulina

una sospensione al 5 per cento V/V nella stessa soluzione. Misurare la densità cellulare della sospensione come segue: aggiungere 0,2 ml della sospensione a 2,8 ml di *acqua R* e centrifugare la soluzione lisata per 5 min a 1000 g; la densità cellulare è appropriata se l'assorbanza (2.2.25) del liquido sopranatante a 541 nm è $0,62 \pm 0,01$. Correggere la densità cellulare aggiungendo la soluzione tampone gelatina-barbital secondo la formula:

$$V_f = \frac{V_i \times A}{0,62}$$

V_f = volume finale corretto,

V_i = volume iniziale,

A = assorbanza della sospensione iniziale a 541 nm.

La sospensione corretta contiene circa 1×10^9 cellule per millilitro.

Titolazione dell'emolisina

Preparare le diluizioni di emolisina come riportato nella Tabella 2.6.17.-1.

Tabella 2.6.17.-1.

Diluizione di emolisina richiesta	Preparazione a partire da		
	Soluzione tampone gelatina-barbital		Emolisina
	Volume (millilitri)	Diluizione (1:)	Volume (millilitri)
7,5	0,65	non diluita	0,1
10	0,90	non diluita	0,1
75	1,80	7,5	0,2
100	1,80	10	0,2
150	1,00	75	1,0
200	1,00	100	1,0
300	1,00	150	1,0
400	1,00	200	1,0
600	1,00	300	1,0
800	1,00	400	1,0
1200	1,00	600	1,0
1600	1,00	800	1,0
2400	1,00	1200	1,0
3200*	1,00	1600	1,0
4800*	1,00	2400	1,0

*eliminare 1,0 ml di miscela

Aggiungere 1,0 ml della sospensione al 5 per cento di globuli rossi di pecora a ciascuna provetta della serie di diluizioni di emolisina, a partire dalla diluizione 1:75 e mescolare. Incubare a 37 °C per 30 min.

Trasferire 0,2 ml di ciascuna miscela incubata in altrettante provette pulite ed aggiungere 1,10 ml di soluzione tampone gelatina-barbital e 0,2 ml di complemento di cavia diluito (per esempio, 1:150). Effettuare questo in duplicato.

Come cellule di controllo non emolizzate preparare tre provette contenenti ciascuna 1,4 ml di soluzione tampone gelatina-barbital e 0,1 ml di sospensione al 5 per cento di globuli rossi di pecora.

Come controllo per l'emolisi completa preparare tre provette, contenenti ciascuna 1,4 ml di *acqua R* e 0,1 ml della sospensione al 5 per cento di globuli rossi di pecora.

Incubare tutte le provette a 37 °C per 60 min e centrifugare a 1000 g per 5 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25) dei liquidi sopranatanti a 541 nm e calcolare il grado percentuale di emolisi in ogni provetta mediante l'espressione.

$$\frac{A_a - A_1}{A_b - A_1} \times 100$$

A_a = assorbanza delle provette contenenti le diluizioni di emolisina,

A_b = assorbanza media delle tre provette con emolisi totale,

A_1 = assorbanza media delle tre provette senza emolisi.

Usando carta millimetrata riportare su grafico il grado percentuale di emolisi come ordinata in funzione del corrispondente valore reciproco della diluizione di emolisina come ascissa. Dall'analisi del grafico, determinare la diluizione ottimale di emolisina. Scegliere una diluizione tale che un ulteriore aumento della quantità di emolisina non determini un cambiamento apprezzabile del grado di emolisi. Questa diluizione è definita come una unità emolitica minima (1 MHU) in 1,0 ml. La diluizione di emolisina ottimale per la sensibilizzazione dei globuli rossi contiene 2 MHU per millilitro.

La titolazione dell'emolisina è valida solo se il grado massimo di emolisi è del 50-70 per cento. Se il grado massimo di emolisi non è compreso in questo intervallo ripetere la titolazione utilizzando una soluzione di complemento diluita di più o di meno.

Preparazione di globuli rossi di pecora sensibilizzati in maniera ottimale (sistema emolitico).

Preparare un volume appropriato di emolisina diluita contenente 2 MHU per millilitro e un uguale volume di sospensione standardizzata di globuli rossi di pecora al 5 per cento. Aggiungere la diluizione di emolisina alla sospensione di globuli rossi e mescolare. Incubare a 37 °C per 15 min, conservare a 2-8 °C ed utilizzare entro 6 h.

Titolazione del complemento

Preparare una diluizione del complemento appropriata (per esempio, 1:250) con la soluzione tampone gelatina-barbital ed eseguire la titolazione in doppio come riportato in Tabella 2.6.17.-2.

Tabella 2.6.17.-2.

Numero della provetta	Volume di complemento diluito in millilitri (per es. 1:250)	Volume di soluzione tampone gelatina-barbital in millilitri
1	0,1	1,2
2	0,2	1,1
3	0,3	1,0
4	0,4	0,9
5	0,5	0,8
6	0,6	0,7
7	0,7	0,6
8	0,8	0,5
9	0,9	0,4
10	1,0	0,3
11	1,1	0,2
12	1,2	0,1
Tre provette come cellule di controllo allo 0 per cento di emolisi	-	1,3
Tre provette al 100 per cento di emolisi	-	1,3 ml di acqua

Aggiungere ad ogni provetta 0,2 ml di sospensione di globuli rossi di pecora sensibilizzati, mescolare accuratamente ed incubare a 37 °C per 60 min. Raffreddare le provette in un bagno di ghiaccio e centrifugare a 1000 g per 5 min. Misurare l'assorbanza del liquido soprannatante a 541 nm e calcolare il grado di emolisi (Y) mediante l'espressione:

$$\frac{A_c - A_1}{A_b - A_1}$$

- A_c = assorbanza delle provette da 1 a 12,
- A_b = assorbanza media delle provette con il 100 per cento di emolisi,
- A_1 = assorbanza media delle provette delle cellule di controllo con lo 0 per cento di emolisi.

Riportare su carta logaritmica $Y/(1 - Y)$ in ascissa e la quantità di complemento diluito in millilitri in ordinata. Tracciare la retta che si adatta meglio ai punti e determinare l'ordinata corrispondente alla dose di completamento che causa il 50 per cento di emolisi dove $Y/(1 - Y) = 1,0$. Calcolare l'attività in unità emolitiche (CH_{50}/ml) mediante l'espressione:

$$\frac{C_d}{C_a \times 5}$$

- C_d = valore inverso della diluizione del complemento,
- C_a = volume in millilitri del complemento diluito che provoca il 50 per cento di emolisi,
- 5 = fattore di correzione che considera il numero di globuli rossi.

Il saggio è valido solo se la retta è lineare tra il 15 per cento e l'85 per cento di emolisi e la pendenza è compresa tra 0,15 e 0,40 e preferibilmente tra 0,18 e 0,30.

Saggio per l'attività anticomplementare

Diluire il complemento di cavia titolato con la soluzione tampone gelatina - barbital in modo da ottenere 100 CH_{50}/ml . Se necessario, correggere a 7 il pH dell'immunoglobulina in esame. Preparare le seguenti miscele di incubazione per un'immunoglobulina contenente 50 mg/ml:

Tabella 2.6.17.-3.

	Immunoglobulina da esaminare	Complemento di controllo (in doppio)
Immunoglobulina (50 mg/ml)	0,2 ml	-
Tampone gelatina-barbital soluzione	0,6 ml	0,8 ml
Complemento	0,2 ml	0,2 ml

Effettuare il saggio sull'immunoglobulina in esame e preparare controlli ACA-negativi e ACA-positivi usando *immunoglobulina umana PBR*, come indicato nel foglietto allegato alla preparazione di riferimento. Aggiungere volumi maggiori o minori di campione e di soluzione tampone gelatina-barbital se la concentrazione di immunoglobulina è diversa da 50 mg/ml; per esempio, aggiungere 0,47 ml di soluzione tampone gelatina-barbital a 0,33 ml di immunoglobulina contenente 30 mg/ml, per ottenere 0,8 ml. Tappare le provette ed incubare a b.m. a 37 °C per 60 min. Aggiungere 0,2 ml di ogni miscela di incubazione a 9,8 ml di soluzione tampone gelatina-barbital per diluire il complemento. Eseguire su ogni provetta la titolazione del complemento come descritto in precedenza per misurare l'attività del complemento residuo (Tabella 2.6.17.-2). Cal-

Saggio per la neurovirulenza del vaccino poliomielitico per uso orale

colare l'attività anticomplementare della preparazione in esame in rapporto al controllo del complemento considerato come 100 per cento mediante l'espressione:

$$\frac{a-b}{a} \times 100$$

a = attività complementare media (CH_{50}/ml) del controllo del complemento,

b = attività complementare (CH_{50}/ml) della preparazione in esame.

Il saggio è valido solo se:

- le attività anticomplementari determinate per il controllo ACA-negativo ed il controllo ACA-positivo sono entro i limiti indicati nel foglietto allegato alla preparazione di riferimento;
- l'attività complementare del controllo (a) del complemento è compresa nell'intervallo 80-120 CH_{50} per millilitro.

2.6.18. SAGGIO PER LA NEUROVIRULENZA DEI VACCINI DI VIRUS VIVI

Usare per ciascun saggio almeno dieci scimmie che sono sieronegative al virus da sottoporre al saggio. Iniettare a ciascuna scimmia, salvo diversa indicazione, non più di 0,5 ml del materiale da esaminare nella regione talamica di ciascun emisfero. La quantità totale di virus inoculata in ciascuna scimmia non deve essere inferiore alla quantità contenuta nella dose umana singola raccomandata di vaccino. Per verificare l'assenza di un virus neurovirulento selvaggio, mantenere un gruppo di controllo di almeno quattro scimmie nella stessa gabbia o nelle immediate vicinanze delle scimmie inoculate. Osservare le scimmie inoculate per 17-21 giorni per evidenziare i sintomi di paralisi e altre manifestazioni di turbe neurologiche; mantenere in osservazione le scimmie di controllo per lo stesso periodo più 10 giorni. Gli animali che muoiono entro le 48 h dall'iniezione sono considerati morti per cause non specifiche e possono essere sostituiti. Il saggio non è valido se più del 20 per cento delle scimmie inoculate muore per cause non specifiche; e se i campioni di siero, prelevati dalle scimmie di controllo al momento dell'inoculazione degli animali in esame e 10 giorni dopo che questi ultimi sono stati sacrificati, mostrano segni di infezione da virus selvaggio del tipo da sottoporre a saggio o da virus del morbillo. Alla fine del periodo di osservazione, effettuare l'autopsia e gli esami istopatologici di appropriate zone del cervello per evidenziare l'eventuale coinvolgimento del sistema nervoso centrale. Il materiale soddisfa al saggio se non compaiono evidenti

segni clinici o istopatologici inaspettati di coinvolgimento del sistema nervoso centrale attribuibili al virus inoculato.

2.6.19. SAGGIO PER LA NEUROVIRULENZA DEL VACCINO POLIOMIELITICO PER USO ORALE

Le scimmie utilizzate nel saggio per la neurovirulenza devono soddisfare ai requisiti riportati nella monografia *Vaccino poliomielitico per uso orale (0215)* e pesano non meno di 1,5 kg. La patogenicità per le scimmie *Macaca* o *Cercopithecus* viene valutata confrontandola con quella di una preparazione di virus di riferimento per il saggio della neurovirulenza mediante inoculazione nella regione lombare del sistema nervoso centrale dopo sedazione con un'appropriata sostanza, per es., il cloridrato di ketamina. Un campione di siero, prelevato prima dell'iniezione, dovrà dimostrare di non contenere anticorpi neutralizzanti quando è esaminato alla diluizione di 1:4 in presenza di non più di 1000 $DICC_{50}$ di ciascuno dei tre tipi di poliovirus.

Numero di scimmie. Il vaccino e il virus omotipo di riferimento sono sottoposti a saggio contemporaneamente nello stesso gruppo di scimmie. Numeri uguali di animali sono inoculati con il vaccino in esame e con la preparazione di riferimento. Gli animali sono suddivisi a caso nei gruppi di trattamento e nelle gabbie e la loro identità è codificata in modo che il trattamento ricevuto da ciascun animale sia ignoto agli osservatori ed a coloro che valuteranno le sezioni istologiche. Il numero di scimmie inoculate è tale che nella valutazione del vaccino e della preparazione di riferimento, ci siano non meno di 11 scimmie positive per il virus tipo 1 e tipo 2 e non meno di 18 scimmie positive per il virus tipo 3 (le scimmie positive sono quelle che presentano lesioni neuronali specifiche da virus poliomielitico nel sistema nervoso centrale). Più lotti di vaccino possono essere sottoposti a saggio con lo stesso riferimento omotipico. Se possibile, si usano scimmie provenienti dallo stesso gruppo di quarantena, altrimenti vengono utilizzate scimmie provenienti da due gruppi ed uguali numeri di ciascun gruppo sono trattati con il vaccino e con la preparazione di riferimento. Se il saggio è effettuato in due giorni lavorativi, un uguale numero di scimmie provenienti da ciascun gruppo è inoculato in ciascun giorno con il vaccino e con la preparazione di riferimento omotipica.

Titolo virale. I titoli virali del vaccino e della preparazione di riferimento omotipica sono aggiustati in modo tale da essere quanto più possibile uguali e compresi tra $10^{5,5}$ e $10^{6,5}$ $DICC_{50}/0,1$ ml.

Osservazione. Tutte le scimmie sono tenute in osservazione per 17-22 giorni per ricercare i sintomi di poliomielite o di altra infezione virale. Le scimmie che sopravvivono alle prime 24 h ma che muoiono prima dell'11° giorno dopo l'inoculazione vengono sottoposte ad autopsia per determinare se la poliomielite è stata la causa della morte. Gli animali che muoiono per cause diverse dalla poliomielite vengono esclusi dalla valutazione. Gli animali moribondi o che sono gravemente paralizzati sono uccisi e sottoposti ad autopsia. Tutti gli animali che sopravvivono fino alla fine del periodo di osservazione sono sottoposti ad autopsia. Il saggio è valido solo se meno del 20 per cento degli animali mostra infezione intercorrente durante il periodo di osservazione.

Numero di sezioni esaminate. Si sottopongono ad esame istologico almeno il midollo lombare, il midollo cervicale, il bulbo inferiore e superiore, il mesencefalo, il talamo e la corteccia cerebrale motoria di ciascuna scimmia. Le sezioni sono tagliate con uno spessore di 15 µm e colorate con galloccianina. Il numero minimo di sezioni esaminate è il seguente:

- (a) 12 sezioni rappresentative dell'intero ingrossamento lombare;
- (b) 10 sezioni rappresentative dell'intero ingrossamento cervicale;
- (c) 2 sezioni del bulbo;
- (d) 1 sezione del ponte e del cervelletto;
- (e) 1 sezione del mesencefalo;
- (f) 1 sezione della parte sinistra e della parte destra del talamo;
- (g) 1 sezione della parte sinistra e della parte destra della corteccia cerebrale motoria.

Indice dell'attività virale. Per la valutazione dell'attività virale nelle emisezioni del midollo spinale e dell'encefalo, è utilizzato un sistema di punteggio (indici) per la gravità delle lesioni, differenziando l'infiltrazione cellulare e la distruzione dei neuroni come segue:

1. Solo infiltrazione cellulare (la scimmia non viene considerata come positiva).
2. Infiltrazione cellulare con minima lesione neuronale.
3. Infiltrazione cellulare con estesa lesione neuronale.
4. Lesione neuronale massiva con o senza infiltrazione cellulare.

Gli indici sono registrati su una scheda standard⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Una scheda idonea viene riportata nei Requisiti per il Vaccino poliomielitico per uso orale (Requisiti per le Sostanze biologiche, n. 7, O.M.S.).

Una scimmia con lesioni neuronali nelle sezioni, ma che non mostra traccia del passaggio dell'ago, viene considerata positiva. Una scimmia che mostra traccia del passaggio dell'ago nelle sezioni, ma che non mostra lesioni neuronali, non viene considerata positiva. Una sezione con danni da trauma ma che non mostra lesioni specifiche da virus non viene inclusa nel conteggio.

Gli indici di gravità si basano sull'esame delle emisezioni delle sezioni istologiche lombari (L), cervicali (C) e cerebrali (B). L'indice delle lesioni (LS) per ciascuna scimmia positiva si calcola come segue:

$$LS = \frac{\left(\begin{array}{c} \text{Somma degli} \\ \text{indici L} \\ \text{Numero} \\ \text{delle emisezioni} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{Somma degli} \\ \text{indici C} \\ \text{Numero} \\ \text{delle emisezioni} \end{array} \right) + \left(\begin{array}{c} \text{Somma degli} \\ \text{indici B} \\ \text{Numero} \\ \text{delle emisezioni} \end{array} \right)}{3}$$

Per ciascun gruppo di scimmie positive viene calcolato un indice medio delle lesioni.

Valutazione. Il confronto dell'attività virale del vaccino e della preparazione di riferimento si basa sull'attività che si manifesta nell'ingrossamento lombare del midollo spinale e sul grado di diffusione dell'attività da questa regione all'ingrossamento cervicale ed al cervello. La decisione di accettare o respingere si basa sull'indice totale di tutti gli animali sottoposti al saggio. Nella valutazione finale sono anche presi in considerazione i singoli animali che mostrano evidenza di una attività insolitamente alta o nella regione lombare o come risultato di una diffusione da questa regione. La sospensione madre monovalente soddisfa al saggio se il numero richiesto di animali è positivo e se nessuno dei reperti clinici e istopatologici mostra differenze significative in patogenicità tra il vaccino e il materiale di riferimento. I criteri per l'accettabilità vengono riportati di seguito.

Criteri. Si effettua su ciascun vaccino di riferimento (tipo 1, 2, e 3) un numero appropriato di saggi di qualificazione per la neurovirulenza (per esempio 4) per ottenere dati sull'attività di tali vaccini che serviranno come base dei criteri per i vaccini da sottoporre a saggio. L'indice di lesione medio totale (M) per i saggi ripetuti, effettuati su ciascun virus di riferimento, viene calcolato insieme alla "stima combinata" della varianza intra-saggio (s^2) e della deviazione intra-saggio (s).

I criteri di validità dei risultati di un saggio su una preparazione di riferimento sono stabiliti in base ai dati cumulativi ottenuti dai saggi di qualificazione. Non può essere fornito alcun criterio applicabile in generale; per i laboratori con esperienza limitata, può essere utile il seguente metodo empirico per stabilire limiti accettabili per l'indice medio delle lesioni per la preparazione di riferimento (X_{rif}) (vedere Tabella 2.6.19.-1):

Tabella 2.6.19.-1.

	Limite inferiore	Limite superiore
Tipo 1 e 2	$M - s$	$M + s$
Tipo 3	$M - s/2$	$M + s$

Se l'indice medio delle lesioni per il vaccino in esame è X_{esame} e C_1 , C_2 e C_3 sono costanti calcolate come descritto di seguito, allora il vaccino non è accettabile se:

$$X_{\text{esame}} - X_{\text{rif}} > C_1$$

il vaccino può essere sottoposto di nuovo a saggio una volta se:

$$C_1 < X_{\text{esame}} - X_{\text{rif}} < C_2$$

Se il vaccino è di nuovo sottoposto a saggio, le medie degli indici delle lesioni per il vaccino in esame e per il vaccino di riferimento vengono ricalcolate. Il vaccino non è accettabile se:

$$\frac{X_{(\text{esame } 1 + \text{esame } 2)} - X_{(\text{rif } 1 + \text{rif } 2)}}{2} > C_3.$$

Le costanti C_1 , C_2 e C_3 si calcolano mediante le espressioni:

$$C_1 = 2,3 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_2 = 2,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_3 = 1,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_2}}$$

N_1 = numero di scimmie positive per il vaccino in esame,

N_2 = numero di scimmie positive nei due saggi,

2,3 = deviazione normale al livello dell'1 per cento,

2,6 = deviazione normale al livello dello 0,5 per cento,

1,6 = deviazione normale al livello del 5 per cento.

Non può essere utilizzato per valutare un vaccino un saggio per la neurovirulenza nel quale l'indice medio delle lesioni per la preparazione di riferimento (X_{rif}) non è compatibile con le esperienze precedentemente ottenute. Se il saggio è valido, l'indice medio delle lesioni per il vaccino in esame (X_{esame}) viene calcolato e confrontato con quello del vaccino di riferimento omotipico.

2.6.20. EMOAGGLUTININE ANTI-A ED ANTI-B (METODO INDIRETTO)

Preparare in duplicato diluizioni in serie della preparazione da esaminare con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Aggiungere a ciascuna diluizione di una serie un volume uguale di una sospensione al 5 per cento V/V di globuli rossi di gruppo A_1 precedentemente lavati, per tre volte, con la soluzione di cloruro di sodio. Aggiungere a ciascuna diluizione dell'altra serie un volume uguale di una sospensione al 5 per cento V/V di globuli rossi di gruppo B precedentemente lavati, per tre volte, con la soluzione di cloruro di sodio. Incubare le sospensioni a 37 °C per 30 min e dopo lavare i globuli rossi, per tre volte, con la soluzione di cloruro di sodio. Lasciare le cellule a contatto con un reattivo polivalente anti-globulina umana per 30 min. Esaminare, senza centrifugare, ciascuna sospensione al microscopio per evidenziare l'agglutinazione.

2.6.21. TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE DELL'ACIDO NUCLEICO

1. INTRODUZIONE

Le tecniche di amplificazione dell'acido nucleico sono basate su due differenti approcci:

1. amplificazione di una sequenza bersaglio di acido nucleico usando, per esempio, la reazione a catena della polimerasi (PCR), la reazione a catena della ligasi (LCR) o l'amplificazione isotermica dell'acido ribonucleico (RNA),
2. l'amplificazione di un segnale di ibridazione usando, per esempio, per l'acido deossiribonucleico (DNA), il metodo del DNA ramificato (bdDNA). In questo caso l'amplificazione del segnale si ottiene senza che l'acido nucleico subisca ripetuti cicli di amplificazione.

In questo capitolo generale, il metodo della PCR è descritto come tecnica di riferimento. Metodi alternativi possono essere usati, se soddisfano ai requisiti di qualità descritti di seguito.

2. SCOPO

Questa sezione stabilisce i requisiti per la preparazione del campione, l'amplificazione *in vitro* delle sequenze di DNA e la rivelazione del prodotto specifico della PCR. Con l'aiuto della PCR, possono essere rivelate sequenze definite di DNA. Possono essere rivelate

anche sequenze di RNA in seguito a trascrizione inversa del RNA nel DNA complementare (cDNA) e successiva amplificazione.

3. PRINCIPIO DEL METODO

La PCR è una procedura che permette l'amplificazione specifica *in vitro* di segmenti di DNA o di RNA dopo la trascrizione inversa nel cDNA.

Dopo la denaturazione della doppia elica di DNA nel DNA a catena singola, due oligonucleotidi sintetici di innesco (*primers*), di polarità opposta, si appaiano alle loro rispettive sequenze complementari nel DNA che deve essere amplificato. Le corte regioni a doppia elica che si formano come risultato dell'accoppiamento specifico di basi tra i *primers* e la sequenza complementare di DNA, delimitano il segmento di DNA che deve essere amplificato e servono come posizioni di partenza per le sintesi *in vitro* di DNA mediante una DNA-polimerasi termostabile.

L'amplificazione del DNA attraversa le seguenti fasi:

- denaturazione mediante calore dell'acido nucleico (sequenza bersaglio) in due catene singole;
- appaiamento specifico dei *primers* alla sequenza bersaglio in condizioni di reazione adatte;
- estensione dei primers, che sono legati ad entrambe le catene singole, mediante la DNA-polimerasi ad una temperatura adatta (sintesi del DNA).

Cicli ripetuti di denaturazione al calore, appaiamento dei *primers* e sintesi del DNA producono un'amplificazione esponenziale del segmento di DNA delimitato dai *primers*.

Il prodotto specifico della PCR, detto unità di amplificazione o *amplicon* può essere rivelato mediante una varietà di metodi di specificità e di sensibilità appropriate.

I dosaggi mediante PCR multipla utilizzano più coppie di *primers* in modo da realizzare un'amplificazione contemporanea di differenti sequenze bersaglio in una reazione.

4. MATERIALE IN ESAME

A causa dell'alta sensibilità della PCR, i campioni devono essere protetti in modo ottimale dalla contaminazione esterna con sequenze bersaglio. Il campionamento, la conservazione ed il trasporto del materiale in esame sono compiuti in condizioni che minimizzano la degradazione della sequenza bersaglio. Nel caso di sequenze bersaglio di RNA, sono necessarie speciali precauzioni poiché l'RNA è altamente sensibile alla degradazione da parte delle ribonucleasi. Si deve fare particolare attenzione poiché alcuni dei reattivi aggiunti, come anticoagulanti o conservanti, possono interferire con la procedura di saggio.

5. METODO DI SAGGIO

5.1. Prevenzione della contaminazione

Il rischio di contaminazione esige una segregazione stretta delle aree che dipende dal materiale trattato e dalla tecnologia usata. I punti da considerare includono il movimento e l'abbigliamento del personale, il flusso del materiale, il rifornimento di aria e le procedure di decontaminazione.

Il sistema dovrebbe essere suddiviso in compartimenti quali:

- area per la miscela madre (dove è trattato esclusivamente materiale esente da sequenze bersaglio che possano agire da stampo, per esempio *primers*, tamponi, ecc.),
- area pre-PCR (dove sono manipolati i reattivi, i campioni e i controlli),
- area di amplificazione in PCR (dove il materiale amplificato è manipolato in un sistema chiuso),
- area di rivelazione post-PCR (l'unica area dove il materiale amplificato è manipolato in un sistema aperto).

5.2. Preparazione del campione

Quando si preparano i campioni, è necessario che la sequenza bersaglio che deve essere amplificata sia efficientemente estratta o liberata dal materiale in esame in maniera riproducibile e in modo da rendere possibile l'amplificazione nelle condizioni di reazione scelte. Possono essere impiegate una varietà di procedure di estrazione fisico-chimiche e/o procedure di arricchimento.

Additivi presenti nel materiale in esame possono interferire con la PCR. Le procedure descritte nel capitolo 7.3.2 devono essere usate come controllo per la presenza di inibitori che derivano dal materiale in esame.

Nel caso di sequenze di RNA che funzionano da stampo, bisogna aver cura di evitare l'attività delle ribonucleasi.

5.3. Amplificazione

L'amplificazione in PCR della sequenza bersaglio è condotta in condizioni di ciclo ottimizzate (profilo di temperatura per la denaturazione del DNA a doppia elica, appaiamento ed estensione dei *primers*; tempi di incubazione a temperature selezionate; velocità di variazione delle temperature). Questi dipendono da vari parametri come:

- la lunghezza e la composizione in basi dei *primers* e delle sequenze bersaglio;
- il tipo di DNA-polimerasi, la composizione del tampone e il volume di reazione usato per l'amplificazione;

- il tipo di apparecchio per PCR usato e la velocità di variazione della conducibilità termica tra l'apparecchio, la provetta di reazione ed il fluido di reazione.

5.4. Rivelazione

L'*amplicon* generato dalla PCR può essere identificato dalla dimensione, dalla sequenza, dalla modificazione chimica o da una combinazione di questi parametri. La rivelazione e la caratterizzazione per dimensione possono essere ottenute mediante elettroforesi su gel (usando agarosio o gel di poliacrilammide o elettroforesi capillare) o mediante cromatografia su colonna (per esempio cromatografia liquida). La rivelazione e la caratterizzazione in base alla composizione della sequenza possono essere ottenute mediante ibridazione specifica di sonde aventi una sequenza complementare alla sequenza bersaglio o mediante segmentazione del materiale amplificato che riflette i siti di restrizione enzimatica specifici del bersaglio. La rivelazione e la caratterizzazione mediante modificazione chimica possono essere ottenute, per esempio, con l'incorporazione di un fluoroforo negli *amplicons* e la successiva rivelazione della fluorescenza conseguente all'eccitazione.

La rivelazione degli *amplicons* può anche essere ottenuta usando sonde marcate per permettere una successiva rivelazione radio-isotopica o immuno-enzimatica.

6. VALUTAZIONE E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Si ottiene un risultato valido in un saggio solo se il controllo(i) positivo è inequivocabilmente positivo e il controllo(i) negativo è inequivocabilmente negativo. A causa dell'altissima sensibilità del metodo PCR e del rischio inerente di contaminazione, è necessario confermare risultati positivi ripetendo la procedura di saggio completa in doppio, dove possibile su una nuova aliquota del campione. Il campione è considerato positivo se almeno uno dei saggi ripetuti dà un risultato positivo. Quando è definita una soglia di risposta misurabile è richiesto un sistema di dosaggio quantitativo.

7. ASSICURAZIONE DELLA QUALITÀ

7.1. Convalida del sistema di dosaggio PCR

Il programma di convalida deve includere la convalida della strumentazione e del metodo PCR impiegato. Dovrebbe essere fatto riferimento alle linee guida ICH (Q2B) *Validation of Analytical Method: Methodology*.

Per la convalida di un saggio di PCR sono indispensabili appropriate preparazioni di riferimento di lavoro ufficiali o preparazioni di riferimento interne calibrate sugli Standard Internazionali per le sequenze bersaglio per le quali sarà usato il sistema di saggio.

7.1.1. Determinazione della soglia di risposta positiva.

Durante la convalida dei saggi qualitativi deve essere determinato il valore soglia positivo. Il valore soglia positivo è definito come il numero minimo di sequenze bersaglio per campione di volume che può essere rivelato nel 95 per cento dei saggi. Il valore soglia positivo dipende da fattori correlati come il volume del campione estratto e l'efficacia della metodologia di estrazione, la trascrizione del RNA bersaglio nel DNAC, il processo di amplificazione e la rivelazione.

Per definire il limite di rivelazione del sistema di dosaggio, deve essere fatto riferimento al punto di interruzione positivo per ciascuna sequenza bersaglio e al risultato del saggio al di sopra e al di sotto del valore soglia positivo.

7.1.2. Sistemi di dosaggio quantitativo

Per i dosaggi quantitativi la convalida comprende la determinazione dei parametri seguenti: esattezza, precisione, specificità, limite di quantificazione, linearità, intervallo di misura, robustezza.

7.2. Controllo di qualità dei reattivi

Tutti i reattivi cruciali per la metodologia usata devono essere controllati prima dell'uso durante l'uso routinario. La loro accettazione/eliminazione è basata su criteri di qualità predefiniti.

I *primers* sono una componente cruciale del saggio PCR e quindi la progettazione della loro sequenza, la purezza e la convalida del loro uso in un dosaggio PCR richiedono attenzione. I *primers* possono essere modificati (per esempio, con la coniugazione con un fluoroforo o un antigene) in modo da permettere l'uso di un metodo specifico di rivelazione dell'*amplicon*, purché tali modificazioni non inibiscano l'accurata ed efficiente amplificazione della sequenza bersaglio.

7.3. Controlli da effettuare in ogni seduta analitica

7.3.1. Controlli esterni

Per minimizzare il rischio di contaminazione e per assicurare sensibilità adeguata, in ciascun saggio PCR sono inclusi i seguenti controlli esterni:

- controllo positivo: contiene un numero definito di copie della sequenza bersaglio, il cui numero è vicino al valore soglia positivo ed è determinato individualmente per ciascun sistema di dosaggio ed indicato come un multiplo del valore soglia positivo del sistema di dosaggio;
- controllo negativo: un campione della stessa matrice nel quale l'assenza di sequenze bersaglio sia già stata dimostrata.

7.3.2. Controllo interno

I controlli interni sono sequenze di acido nucleico definite e salvo indicazione contraria, contenenti i siti di legame del *primer*. I controlli interni devono essere amplificati con efficacia definita e gli *amplicons* devono essere chiaramente distinguibili. I controlli interni devono essere dello stesso tipo di acido nucleico (DNA/RNA) del materiale che deve essere esaminato. Il controllo interno è aggiunto di preferenza al materiale in esame prima dell'isolamento dell'acido nucleico e quindi agisce come un controllo globale (estrazione, trascrizione inversa, amplificazione, rivelazione).

7.3.3. Controllo quantitativo

Il controllo di soglia per i dosaggi quantitativi è un campione contenente l'analita ad una concentrazione che è definita come limite massimo (soglia che non deve essere superata). Esso contiene l'analita ad una concentrazione opportunamente tarata in U.I. ed è analizzato in parallelo in ciascuna serie di misure quantitative.

7.4. Valutazione esterna della qualità

La partecipazione a programmi di valutazione esterna della qualità è una importante procedura di assicurazione della qualità della PCR per ciascun laboratorio e per ciascun operatore.

La seguente sezione è data solo per informazione.

LINEE GUIDA SULLA CONVALIDA DELLE TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE DELL'ACIDO NUCLEICO (NAT) PER LA RIVELAZIONE DELL'RNA DEL VIRUS DELL'EPATITE C (HCV) NELLE MISCELE DI PLASMA

1. SCOPO

La maggioranza delle procedure analitiche di amplificazione degli acidi nucleici (NAT) sono saggi qualitativi (quantali) per evidenziare la presenza di acido nucleico; sono disponibili alcuni saggi quantitativi (interni o commerciali). Per la rivelazione della contaminazione delle miscele di plasma con RNA dell'HCV, i saggi qualitativi sono adeguati e possono essere considerati come un saggio limite per il controllo delle impurezze come descritto in *Pharmeuropa*, Dicembre 1999, Technical Guide for the elaboration of monographs, Chapter III "Validation of analytic procedures". Queste linee guida descrivono metodi per convalidare solo le procedure di analisi qualitativa NAT al fine di valutare la contaminazione delle miscele di plasma con RNA dell'HCV. Quindi, le due caratteristiche considerate come le più importanti per la convalida della procedura analitica sono la specificità e il limite di rivelazione. In aggiunta, dovrebbe essere valutata la robustezza della procedura analitica.

Tuttavia, questo documento può anche essere usato come base per la convalida di NAT in generale.

Per lo scopo di questo documento, una procedura analitica è definita come la procedura completa a partire dall'estrazione dell'acido nucleico, fino alla rivelazione dei prodotti amplificati.

Se sono usati kit commerciali per una parte o per tutta la procedura analitica, punti di convalida già trattati e documentati dal produttore del kit possono sostituire la convalida da parte degli utilizzatori. Tuttavia, la prestazione del kit rispetto all'uso che se ne intende fare deve essere dimostrata dagli utilizzatori (per esempio, limite di rivelazione, robustezza, contaminazione crociata).

2. SPECIFICITÀ

La specificità è la capacità di valutare inequivocabilmente l'acido nucleico in presenza dei componenti che ci si aspetta possano essere presenti.

La specificità delle procedure analitiche NAT dipende dalla scelta dei *primers*, la scelta della sonda (per l'analisi del prodotto finale) e il rigore delle condizioni di saggio (per entrambe le fasi di amplificazione e di rivelazione).

Quando si progettano i *primers* e le sonde deve essere verificata la specificità dei *primers* e delle sonde di rivelare solo l'RNA dell'HCV confrontando le sequenze scelte con le sequenze pubblicate nelle banche dati. Per l'HCV, i *primers* (e le sonde) saranno normalmente scelti dalle aree della regione non codificante al 5' del genoma di HCV che sono altamente conservate per tutti i genotipi.

Il prodotto amplificato deve essere identificato inequivocabilmente mediante l'uso di uno tra i tanti metodi come amplificazione con *primers* localizzati su sequenze interne, analisi mediante restrizione enzimatica, sequenziamento o ibridazione con una sonda specifica.

Per poter convalidare la specificità della procedura analitica, almeno 100 miscele di plasma negative per l'RNA di HCV devono essere sottoposte a saggio e dimostrate non reattive. Campioni adatti di miscele non reattive sono disponibili presso l'EDQM.

La capacità della procedura analitica di rivelare tutti i genotipi dell'HCV dipenderà di nuovo dalla scelta dei *primers*, delle sonde e dei parametri di reazione. Questa capacità dovrebbe essere dimostrata usando insieme di riferimento caratterizzati. Tuttavia, vista la difficoltà nell'ottenere campioni di alcuni genotipi (per esempio il genotipo 6), i genotipi a prevalenza maggiore (per esempio in Europa i genotipi 1 e 3) dovrebbero essere rivelati ad un livello appropriato.

3. LIMITE DI RIVELAZIONE

Il limite di rivelazione di una singola procedura analitica è la quantità più bassa di acido nucleico in un campione che può essere rivelata, ma non necessariamente quantificata come valore esatto.

La procedura analitica NAT usata per la rivelazione dell'RNA di HCV nelle miscele di plasma dà generalmente risultati qualitativi. Il numero dei risultati possibili è limitato a due, o positivo o negativo. Benché sia raccomandata la determinazione del limite di rivelazione, per scopi pratici, deve essere determinato un valore soglia positivo per la procedura analitica NAT. Il valore soglia positivo (come definito nel capitolo generale 2.6.21) è il numero minimo di sequenze bersaglio per volume di campione che può essere rivelato nel 95 per cento dei saggi. Questo valore soglia positivo è influenzato dalla distribuzione dei genomi virali nei singoli campioni in esame e da fattori come l'efficienza enzimatica e può comportare differenti valori soglia al 95 per cento per una singola seduta analitica.

Per determinare il valore soglia positivo, una serie di diluizioni di un reattivo di lavoro o del *virus dell'epatite C BRP*, che è stato calibrato rispetto allo Standard Internazionale dell'O.M.S. dell'HCV 96/790, deve essere sottoposta a saggio in giorni differenti per esaminare variazioni tra i saggi. Almeno 3 serie di diluizioni indipendenti devono essere sottoposte a saggio con un numero sufficiente di repliche a ciascuna diluizione per un numero totale di 24 risultati di saggio per ciascuna diluizione per permettere un'analisi statistica dei risultati.

Per esempio, un laboratorio potrebbe sottoporre a saggio 3 serie di diluizioni in giorni differenti con 8 repliche di ciascuna diluizione, 4 serie di diluizioni in giorni differenti con 6 repliche di ciascuna diluizione, o 6 serie di diluizioni in giorni differenti con 4 repliche di ciascuna diluizione. Per limitare il numero di diluizioni ad un livello maneggevole, si deve eseguire un saggio preliminare (usando, per es. diluizioni logaritmiche del campione di miscela di plasma) in modo da ottenere un valore soglia positivo preliminare (per es. la diluizione più alta che dà un segnale positivo). L'intervallo delle diluizioni può essere poi scelto intorno al valore soglia determinato preliminarmente (usando, per es., un fattore di diluizione uguale o inferiore a 0,5 log e una miscela di plasma negativa come matrice di diluizione). La concentrazione dell'RNA di HCV che può essere rivelata nel 95 per cento dei saggi può poi essere calcolata usando una valutazione statistica appropriata.

Questi risultati possono servire anche per dimostrare la variazione intra-dosaggio e la variazione giorno per giorno della procedura analitica.

4. ROBUSTEZZA

La robustezza di una procedura analitica è una misura della sua capacità di non essere influenzata da variazioni piccole ma deliberate dei parametri del metodo e fornisce un'indicazione della sua affidabilità durante l'uso normale.

La valutazione della robustezza deve essere presa in considerazione durante la fase dello sviluppo. Dovrebbe dimostrare l'affidabilità della procedura analitica rispetto alle variazioni deliberate dei parametri del metodo. Per la NAT, piccole variazioni nei parametri del metodo possono essere cruciali. Tuttavia, la robustezza del metodo può essere dimostrata durante il suo sviluppo quando piccole variazioni nelle concentrazioni dei reattivi, per es. MgCl₂, *primers* o dNTP, sono sottoposte a saggio. Per dimostrare la robustezza, dovrebbero essere sottoposte a saggio e trovate positive almeno 20 miscele di plasma, selezionate a caso, negative per l'RNA di HCV e intenzionalmente contaminate con l'RNA di HCV ad una concentrazione finale pari a 3 volte il valore soglia al 95 per cento preventivamente determinato.

Possono anche sorgere problemi con la robustezza per i metodi che usano una fase di ultracentrifugazione iniziale prima dell'estrazione dell'RNA virale. Quindi, per verificare la robustezza di tali metodi, devono essere sottoposte a saggio e trovate positive almeno 20 miscele di plasma contenenti livelli diversi di RNA di HCV ma prive di anticorpi specifici per l'HCV.

La prevenzione della contaminazione crociata deve essere dimostrata mediante rivelazione accurata di un insieme di almeno 20 campioni costituito da campioni alternati di miscele di plasma negative e di miscele di plasma negative intenzionalmente contaminate con alte concentrazioni di HCV (almeno 10² volte il valore soglia al 95 per cento o almeno 10⁴ U.I./ml).

5. ASSICURAZIONE DELLA QUALITÀ

Per i saggi biologici come il NAT, possono sorgere problemi specifici che possono influenzare sia la convalida sia l'interpretazione dei risultati. Le procedure di saggio devono essere descritte in modo preciso sotto forma di procedure operative standard (SOP). Queste dovrebbero comprendere:

- il modo di campionamento (tipo di contenitore, ecc.),
- la preparazione di mini-miscele (se del caso),
- le condizioni di conservazione prima dell'analisi,

- l'esatta descrizione delle condizioni di saggio, comprese le precauzioni prese per prevenire la contaminazione crociata o la distruzione dell'RNA virale, i reattivi e le preparazioni di riferimento usate,
- l'esatta descrizione dell'apparecchiatura usata,
- le formule dettagliate per il calcolo dei risultati, compresa la valutazione statistica.

L'uso di un adatto controllo del saggio (per es. una diluizione appropriata di *virus dell'epatite C BRP* o plasma intenzionalmente contaminato con un campione di HCV calibrato contro lo Standard Internazionale HCV 96/790 dell'O.M.S.) può essere considerato una verifica soddisfacente dell'idoneità del sistema ed assicura che l'affidabilità della procedura analitica sia mantenuta ogni volta che viene usata.

Qualificazione tecnica: si deve eseguire una installazione appropriata e un programma di qualificazione operativa per ciascuna parte critica dell'apparecchiatura usata. La conferma della prestazione della procedura analitica dopo il cambio dell'apparecchiatura critica (per es. apparecchio per PCR) deve essere documentata mediante conduzione di un saggio parallelo su 8 repliche di una miscela di plasma intenzionalmente contaminato con RNA di HCV ad una concentrazione finale pari a 3 volte il valore soglia al 95 per cento previamente determinato. Tutti i risultati devono essere positivi.

Qualificazione dell'operatore: si deve avviare un programma di qualificazione appropriato per ciascun operatore che effettua tali saggi. Per verificare la riuscita dell'addestramento ciascun operatore deve sottoporre a saggio almeno 8 repliche di una miscela di plasma intenzionalmente contaminato con RNA di HCV ad una concentrazione finale pari a 3 volte il valore soglia al 95 per cento previamente determinato. Questo saggio (8 repliche) deve essere ripetuto due volte in due giorni separati, per es. un totale di 24 saggi effettuati in tre giorni differenti. Tutti i risultati devono essere positivi.

2.6.22. FATTORI DELLA COAGULAZIONE ATTIVATI

Quando applicabile, determinare la quantità di eparina presente (2.7.12) e neutralizzarla aggiungendo per esempio *protamina solfato R* (10 µg di protamina solfato neutralizza 1 U.I. di eparina). Preparare delle diluizioni 1:10 ed 1:100 usando *tampone tris(idrossimetil)amminometano soluzione a pH 7,5 R*. Porre a b.m. a 37 °C una serie di provette di polistirene ed aggiungere a ciascuna di esse 0,1 ml di *plasma povero di piastrine R* e 0,1 ml di una diluizione appropriata di una preparazione di fosfolipidi destinata a

giocare il ruolo di sostituto piastrinico. Lasciare a riposo per 60 s. Aggiungere a ciascuna provetta 0,1 ml di una delle due diluizioni e in una provetta 0,1 ml della soluzione tampone (provetta di controllo). A ciascuna provetta aggiungere immediatamente 0,1 ml di una soluzione (3,7 g/l) di *calcio cloruro R* (riscaldato a 37 °C) e misurare il tempo che intercorre tra l'aggiunta del calcio cloruro e la formazione del coagulo, entro 30 min dall'allestimento della diluizione iniziale. Il saggio è valido solo se il tempo di coagulazione misurato per la provetta di controllo è compreso tra 200 s e 350 s.

2.6.24. VACCINI VIRALI AVIARI: RICERCA DEGLI AGENTI ESTRANEI NEI LOTTI DI SEMENZA

DISPOSIZIONI GENERALI

a) Nei saggi seguenti i polli e/o il materiale proveniente dai polli come le uova e le colture cellulari devono derivare da allevamenti di polli esenti da microrganismi patogeni specificati (EOPS) (5.2.2).

b) Le colture cellulari destinate ai saggi per la ricerca degli agenti estranei soddisfano ai requisiti relativi alle colture di cellule primarie specificati nel capitolo 5.2.4. *Colture cellulari per la produzione di vaccini per uso veterinario*, ad eccezione dei saggi del cariotipo e del potere tumorigeno che non devono essere effettuati.

c) Nei saggi che utilizzano colture cellulari, sono date indicazioni precise sul numero di colture, la superficie del tappeto cellulare e il tasso minimo di sopravvivenza delle colture. E' anche possibile scegliere un numero differente di colture e un'altra superficie cellulare purché siano utilizzate almeno 2 colture e che la superficie totale e il volume totale della sostanza da esaminare applicati siano mantenuti a dei livelli non inferiori a quelli prescritti in questo testo e i requisiti del tasso di sopravvivenza siano adattati di conseguenza.

d) Se la preparazione da esaminare è liofilizzata, ricostituirla con un liquido appropriato. Ad eccezione di indicazione contraria e giustificata, la sostanza in esame deve contenere una quantità di virus equivalente ad almeno 10 dosi di vaccino in 0,1 ml di inoculo.

e) Se il virus del lotto di semenza può interferire con l'esecuzione e la sensibilità del saggio, neutralizzare il virus nella preparazione con un sierimmune monospecifico.

f) I sierimmuni monospecifici e il siero di origine aviaria utilizzato per la coltura cellulare o per ogni altro scopo, in questi saggi, devono essere privi di anticorpi diretti contro i microrganismi indicati nella lista ripor-

tata di seguito al paragrafo 7. Specifiche degli anticorpi nei sieri utilizzati nel saggio degli agenti estranei, ed esenti da effetti inibitori sugli stessi microrganismi.

g) Quando specificato in una monografia o se altrimenti giustificato, se è richiesta la neutralizzazione del virus del lotto di semenza ma è difficile da realizzare, sono adatti i saggi *in vitro* descritti di seguito, se richiesto, per avere le garanzie necessarie per dimostrare l'assenza di contaminazione da parte di un agente estraneo.

h) Possono essere utilizzati altri tipi di saggi diversi da quelli indicati purché essi abbiano almeno la stessa sensibilità di quelli indicati e siano di specificità appropriata. Le tecniche di amplificazione dall'acido nucleico (2.6.21) forniscono una rivelazione specifica per molti agenti e possono essere utilizzate dopo convalida della sensibilità e della specificità.

1. SAGGIO PER LA RICERCA DEGLI AGENTI ESTRANEI SU UOVA EMBRIONATE DI GALLINA

Utilizzare un campione della preparazione in esame, diluita se necessario, contenente una quantità di virus neutralizzato equivalente ad almeno 10 dosi di vaccino in 0,2 ml di inoculo. Possono essere aggiunti antibiotici appropriati. Inoculare la preparazione in esame in 3 gruppi di 10 uova embrionate di gallina come riportato di seguito.

- gruppo 1: 0,2 ml di inoculo nella cavità allantoidea di ciascun uovo embrionato dell'età di 9-11 giorni,
- gruppo 2: 0,2 ml di inoculo sulla membrana corio-allantoidea di ciascun uovo embrionato dell'età di 9-11 giorni,
- gruppo 3: 0,2 ml di inoculo nel sacco vitellino di ciascun uovo embrionato dell'età di 5-6 giorni.

Osservare quotidianamente per 7 giorni le uova dei gruppi 1 e 2 e per 12 giorni quelle del gruppo 3.

Eliminare gli embrioni che muoiono durante le prime 24 h come morti non specifiche; il saggio è valido solo se almeno 6 embrioni di ciascun gruppo sopravvivono oltre le 24 h dopo l'inoculazione.

Eseguire un esame macroscopico per evidenziare eventuali anomalie di tutti gli embrioni morti dopo le prime 24 h o che hanno superato il periodo di incubazione. Esaminare anche la membrana corio-allantoidea di queste uova per evidenziare eventuali anomalie ed effettuare una ricerca degli agenti emoagglutinanti sul liquido allantoideo.

Effettuare un secondo passaggio su embrioni. Riunire separatamente i prodotti ottenuti dagli embrioni morti ed anormali e dagli embrioni vivi. Inoculare ciascuna miscela in 10 uova embrionate secondo ciascuno dei

modi di somministrazione descritti precedentemente, utilizzando il materiale proveniente rispettivamente dalle membrane corio-allantoiche per l'inoculazione sulle membrane corio-allantoiche, dai liquidi della cavità allantoidea e dall'embrione per l'inoculazione nel sacco vitellino.

Nel caso delle uova inoculate per via allantoidea e corio-allantoidea, osservare le uova quotidianamente per 7 giorni procedendo ed esaminando come descritto precedentemente. Nel caso delle uova inoculate nel sacco vitellino, osservare quotidianamente le uova per 12 giorni procedendo ed esaminando come descritto precedentemente.

Il lotto di semenza soddisfa il saggio se nessun embrione presenta anomalie macroscopiche o muore per cause attribuibili alla preparazione in esame, e se l'esame delle membrane corio-allantoiche e i saggi sui fluidi allantoici non forniscono alcuna indicazione della presenza di agenti estranei.

2. SAGGIO PER LA RICERCA DEGLI AGENTI ESTRANEI SU COLTURE DI CELLULE RENALI DI POLLO

Preparare 7 colture di cellule renali di pollo sottoforma di tappeto cellulare (monostrato) con una superficie di circa 25 cm². Conservare 2 monostrati come controllo negativo e trattarle nello stesso modo delle 5 colture di cellule che sono state inoculate con la sostanza in esame come descritto di seguito. Eliminare il terreno di coltura quando le cellule raggiungono la confluenza. Inoculare 0,1 ml della preparazione in esame in ciascuno dei monostrati cellulari. Lasciare adsorbire per 1 h, aggiungere il terreno di coltura ed incubare le colture per un totale di almeno 21 giorni, effettuando una sottocoltura ad intervalli di 4-7 giorni. Ciascun passaggio è realizzato con una miscela delle cellule e dei fluidi ottenuti dai terreni di coltura di tutti i 5 monostrati cellulari dopo un ciclo di congelamento-scongelo. Inoculare 0,1 ml di questa miscela in altri 5 monostrati cellulari, di circa 25 cm², preparati di recente. Per l'ultimo passaggio, effettuare anche una sottocoltura su un substrato appropriato in modo da ottenere, da ciascun monostrato cellulare di origine, un tappeto cellulare di circa 10 cm² per effettuare il saggio A. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento dei monostrati cellulari sopravvive a ciascun passaggio.

Durante tutto il periodo di incubazione procedere di frequente ad esami microscopici di tutte le colture cellulari per evidenziare eventuali segni di effetto citopatico o altre indicazioni della presenza di agenti contaminanti nella sostanza in esame. Alla fine dell'intero periodo di incubazione, effettuare i saggi seguenti.

- A. Fissare e colorare (con Giemsa o ematossilina ed eosina) circa 10 cm² di cellule confluenti ottenute da ciascuno dei 5 monostrati. Esaminare le cellule al microscopio per evidenziare ogni effetto citopatico, ogni corpo incluso, qualsiasi formazione sinciziale ed ogni altra indicazione della presenza di agenti contaminanti nella sostanza in esame.
- B. Eliminare il terreno di coltura e lavare circa 25 cm² di cellule derivanti da ciascuno dei 5 monostrati. Ricoprire queste cellule con una sospensione allo 0,5 per cento di eritrociti di pollo lavati (utilizzare almeno 1 ml di sospensione ogni 5 cm² di cellule). Incubare le cellule a 4 °C per 20 min, poi lavarle con precauzione in soluzione salina fosfato tampone a pH 7,4. Esaminare le cellule al microscopio per evidenziare un eventuale emoadsorbimento attribuibile alla presenza di agenti emoadsorbenti nella sostanza in esame.
- C. Effettuare un controllo su ciascun campione di ciascun terreno di coltura utilizzando eritrociti di pollo, per evidenziare un'eventuale presenza di agenti emoagglutinanti nella preparazione in esame.

Il saggio non è valido se si evidenzia la presenza di segni di agenti estranei nelle colture utilizzate come controlli negativi. Il lotto di semenza soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza di agenti estranei.

3. SAGGIO PER LA RICERCA DEI VIRUS DELLA LEUCOSI AVIARIA

Preparare almeno 13 monostrati di fibroblasti primari o secondari di embrione di pollo ottenuti da tessuti di embrioni dell'età di 9-11 giorni che sono noti per essere geneticamente suscettibili ai sottogruppi A, B e J dei virus esogeni della leucosi aviaria ma non endogeni (cellule dei ceppi C/E di pollo sono appropriate). Ciascun monostrato deve avere una superficie di circa 50 cm².

Eliminare il terreno di coltura quando le cellule hanno raggiunto la confluenza. Inoculare 0,1 ml della sostanza in esame in ciascuno dei 5 monostrati. Lasciare adsorbire per 1 h, poi aggiungere il terreno di coltura. Inoculare 2 monostrati con il virus della leucosi aviaria sottogruppo A (non più di 10 DICC₅₀ in 0,1 ml), altri 2 monostrati con il virus della leucosi aviaria sottogruppo B (al massimo 10 DICC₅₀ in 0,1 ml) ed altre 2 monostrati con il virus della leucosi aviaria sottogruppo J (al massimo 10 DICC₅₀ in

0,1 ml); queste colture serviranno come controlli positivi. Conservare almeno 2 colture non infettate come controlli negativi.

Incubare le cellule per almeno 9 giorni totali, effettuando le sottocolture ad intervalli di 3-4 giorni. Conservare le cellule di ciascun livello di passaggio e raccogliere le cellule alla fine del periodo totale di incubazione. Lavare le cellule di ciascun livello di passaggio ottenute da ciascuna coltura iniziale e sospenderle di nuovo, alla concentrazione di 10⁷ cellule per millilitro, nella soluzione salina tampone barbitale per esaminarle mediante il saggio di Fissazione del Complemento per la ricerca di virus della Leucosi Aviaria (saggio COFAL) oppure sospenderle nella soluzione salina tampone fosfato per esaminarle mediante dosaggio ELISA. Effettuare poi 3 cicli di congelamento-scongelo per liberare l'antigene specifico di gruppo ed effettuare un saggio COFAL o un saggio ELISA su ciascun estratto per evidenziare se è presente l'antigene specifico di gruppo per la leucosi aviaria.

Il saggio non è valido se l'antigene specifico di gruppo è rivelato in almeno 5 delle 6 colture utilizzate come controllo positivo oppure se uno dei controlli negativi dà un risultato positivo o i risultati dei 2 monostrati utilizzati come controlli negativi sono inconcludenti. Se più di 1 coltura infettata con la preparazione in esame dà un risultato non concludente devono essere fatte nuove sottocolture con porzioni conservate di monostrati di fibroblasti e queste sono sottoposte a saggio fino ad ottenere un risultato inequivocabile. Se una delle colture infettate con la preparazione in esame dà un risultato positivo è dimostrata la presenza del virus della leucosi aviaria.

Il lotto di semenza soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza di virus della leucosi aviaria.

4. SAGGIO PER LA RICERCA DEL VIRUS DELLA RETICOLOENDOTELIOSI AVIARIA

Preparare 11 monostrati primari o secondari di fibroblasti di embrioni di pollo ottenuti da embrioni dell'età di 9-11 giorni o di fibroblasti di anatra ottenuti da tessuti di embrioni dell'età di 13-14 giorni. Ciascun monostrato deve avere una superficie di circa 25 cm².

Eliminare il terreno di coltura alla confluenza. Inoculare 0,1 ml della preparazione un esame in ciascuno di questi 5 monostrati. Lasciare adsorbire per 1 h e aggiungere il terreno di coltura. Inoculare 4 di questi monostrati con il virus della reticoendoteliosi i quali

serviranno come controlli positivi (non più di 10 DICC₅₀ in 0,1 ml). Mantenere 2 monostrati non inoculati come controlli negativi.

Inoculare le cellule per un totale di almeno 10 giorni ed effettuare 2 sottocolture ad intervalli di 3-4 giorni. Il saggio non è valido se, dopo ogni passaggio, sopravvivono meno di 3 delle 4 colture di controllo positivo o meno di 4 dei 5 monostrati in esame o se nessuno dei 2 controlli negativi sopravvive.

Per l'ultima sottocultura, far crescere i fibroblasti su un appropriato substrato in modo da ottenere un'area di circa 10 cm² di fibroblasti confluenti da ciascuno degli 11 monostrati iniziali per il saggio seguente: effettuare una ricerca del virus della reticoloendoteliosi aviaria, mediante immunocolorazione, su circa 10 cm² di fibroblasti confluenti derivati da ciascuno degli 11 monostrati iniziali.

Il saggio non è valido se evidenzia il virus della reticoloendoteliosi aviaria in almeno 3 dei 4 monostrati utilizzati come controlli positivi o in uno dei monostrati utilizzati come controlli negativi oppure se i risultati di entrambi i 2 monostrati di controllo negativo sono inconcludenti. Se i risultati per più di 1 dei monostrati esaminati sono inconcludenti devono essere effettuate delle nuove sottocolture di porzioni di monostrati cellulari di fibroblasti conservate e sono esaminate fino ad ottenere un risultato inequivocabile.

Il lotto di semenza soddisfa al saggio se non si evidenziano segni della presenza del virus della reticoloendoteliosi aviaria.

5. SAGGIO PER LA RICERCA DEL VIRUS DELL'ANEMIA DEL POLLO

Preparare 11 sospensioni di 20 ml della linea cellulare MDCC-MSBI o di un'altra linea cellulare di sensibilità equivalente, in un pallone di coltura cellulare da 25 cm² contenente 5×10⁵ cellule/ml. Inoculare 0,1 ml della sostanza in esame in ciascuno dei 5 palloni. Inoculare 10 DICC₅₀ del virus dell'anemia del pollo in 4 sospensioni che serviranno come controlli positivi.

Conservare almeno 2 sospensioni non infettate. Incubare tutte le colture per un totale di almeno 24 giorni effettuando 8 sottocolture ad intervalli di 3-4 giorni. Durante le sottocolture, la presenza del virus dell'anemia del pollo si può manifestare con un cambiamento di origine metabolica della colorazione nelle colture infettate e il terreno di coltura appare rosso rispetto a quello delle colture di controllo. Esaminare le cellule al microscopio per evidenziare un eventuale effetto citopatico. Dopo questo esame oppure alla fine del periodo d'incubazione, centrifugare

le cellule di ciascun pallone a bassa velocità e sospenderle di nuovo in modo da ottenere una concentrazione di 10⁶ cellule/ml e trasferire 25 µl della sospensione in ciascuno dei 10 pozzetti di una piastra. Esaminare le cellule mediante immunocolorazione.

Il saggio non è valido se il virus dell'anemia del pollo è evidenziato in almeno di 3 delle 4 colture dei controlli positivi o in almeno uno dei controlli non inoculati. Se più di 1 coltura infettata con la preparazione dà un risultato non concludente devono essere effettuate nuove sottocolture della porzione della sospensione in esame conservate e sono esaminate fino ad ottenere un risultato inequivocabile.

Il lotto di semenza soddisfa il saggio se non si evidenzia la presenza di virus dell'anemia del pollo.

6. SAGGIO PER LA RICERCA DEGLI AGENTI ESTRANEI SU PULCINO

Iniettare a ciascuno di almeno 10 pulcini l'equivalente di 100 dosi di vaccino per via intramuscolare, e per instillazione oculare l'equivalente di almeno 10 dosi. Utilizzare pulcini dell'età di 2 settimane, oppure se il virus del lotto di semenza è patogeno per i pulcini di questa età, possono essere utilizzati pulcini di età maggiore se richiesto e giustificato. In casi eccezionali, per i vaccini inattivati il virus può essere neutralizzato mediante serimmuni specifici se, all'età della somministrazione, il virus del lotto di semenza è patogeno. Ripetere l'inoculazione 2 settimane dopo. Osservare i pulcini per un periodo di 5 settimane dal giorno della prima inoculazione. Non si devono somministrare agenti antimicrobici ai pulcini durante il periodo di osservazione. Il saggio non è valido se il numero dei pulcini che sopravvivono alla fine del periodo di osservazione è inferiore all'80 per cento.

Effettuare un prelievo di siero da ciascun pulcino alla fine del periodo di osservazione. Effettuare su ciascun campione di siero una ricerca degli anticorpi diretti contro gli agenti riportati di seguito (ad eccezione del virus dello stesso tipo di quello del lotto di semenza), mediante uno dei metodi indicati per la ricerca dell'agente in questione.

L'osservazione nel pulcino di segni clinici (diversi dai segni attribuibili al virus del lotto di semenza) nel corso del periodo di osservazione e la rivelazione di anticorpi nel pulcino dopo l'inoculazione (ad eccezione dell'anticorpo del virus del lotto di semenza) sono considerati come evidenza della presenza di un agente estraneo nel lotto di semenza.

Si raccomanda di conservare i sieri di questi pulcini in modo da poter effettuare dei saggi supplementari in caso di cambiamento dei requisiti.

Vaccini virali aviari: ricerca degli agenti estranei nei lotti di semenza

A. Saggi standards

Agente	Tipo di saggio
Adenovirus aviarii, gruppo 1	SN, EIA, AGP
Ortoreovirus aviarii	IS, EIA
<i>Salmonella pullorum</i>	Agg
Virus dell'anemia dei polli	IS, EIA, SN
Virus della borsite infettiva aviaria	Sierotipo 1: AGP, EIA, SN Sierotipo 2: SN
Virus della bronchite infettiva aviaria	EIA, HI
Virus dell'encefalomielite aviaria	AGP, EIA
Virus dell'influenza A	AGP, EIA, HI
Virus della laringotracheite infettiva aviaria	SN, EIA, IS
Virus della leucosi aviaria	SN, EIA
Virus della malattia di Marek	AGP
Virus della malattia di Newcastle	HI, EIA
Virus della nefrite aviaria	IS
Virus della reticoloendoteliosi aviaria	AGP, IS, EIA
Virus della rinotracheite del tacchino	EIA
Virus della sindrome della caduta dell'ovodeposizione	HI, EIA

Agg = agglutinazione
 AGP = precipitazione su agar gel
 EIA = dosaggio immunoenzimatico (per es. ELISA)
 IS = immunocolorazione (per es. anticorpi fluorescenti)
 HI = inibizione dell'emoagglutinazione
 SN = sieroneutralizzazione

B. Saggi supplementari per la ricerca di agenti estranei su tacchino

Se il virus del lotto di semenza o se i substrati della moltiplicazione del virus provengono dal tacchino, effettuare anche una ricerca degli anticorpi diretti nei confronti degli agenti riportati di seguito.

Agente	Tipo di saggio
<i>Clamidia</i> spp.	EIA
Paramyxovirus 3 aviario	HI
Virus della borsite infettiva aviaria tipo 2	SN
Virus dell'enterite emorragica infettiva aviaria	AGP

Effettuare la ricerca del virus della malattia linfo-proliferativa del tacchino mediante inoculazione della preparazione per via intraperitoneale a 20 tacchini dell'età di 4 settimane. Osservare gli animali per 40 giorni. Il saggio non è valido se più del 20 per cento dei tacchini muore per cause non specifiche. Il lotto di semenza soddisfa al saggio se sezioni istologiche della milza e del timo prelevate da 10 tacchini, 2 settimane dopo l'inoculazione, non mostrano lesioni macroscopiche o microscopiche (diverse da quelle attribuibili al virus del lotto di semenza) e se nessun tacchino muore per cause attribuibili al lotto di semenza.

C. Saggi supplementari per la ricerca di agenti estranei su anatra

Se il virus del lotto di semenza o i substrati di moltiplicazione del virus provengono dall'anatra, effettuare anche una ricerca degli anticorpi diretti contro gli agenti seguenti.

Agente	Tipo di saggio
<i>Clamidia</i> spp.	EIA
Parvovirus dell'anatra e dell'oca	SN, EIA
Virus dell'enterite dell'anatra	SN
Virus di tipo I dell'epatite dell'anatra	SN

Il lotto di semenza soddisfa il saggio se non si evidenzia la presenza di agenti estranei.

D. Saggi supplementari per la ricerca di agenti estranei sull'oca

Se il virus del lotto di semenza o i substrati di moltiplicazione del virus provengono dall'oca, effettuare anche una ricerca degli agenti seguenti.

Agente	Tipo di saggio
Parvovirus dell'anatra e dell'oca	SN, EIA
Polyomavirus emorragico dell'oca	Saggio sulle oche riportato di seguito o un altro saggio appropriato
Virus dell'enterite dell'anatra	SN

Inoculare per via sottocutanea l'equivalente di almeno 10 dosi a ciascuna di 10 oche recettive dell'età di 1 giorno. Osservare le oche per 28 giorni. Il saggio non è valido se più del 20 per cento delle oche muoiono per cause non specifiche. Il virus del lotto di semenza soddisfa al saggio se nessun'oca muore per cause attribuibili al lotto di semenza.

7. SPECIFICHE RELATIVE ALLA PRESENZA DI ANTICORPI NEI SIERI UTILIZZATI PER LA RICERCA DI AGENTI ESTRANEI

Si deve dimostrare, mediante saggi di sensibilità appropriata, che tutti i lotti di siero utilizzati nella ricerca di agenti estranei, sia per neutralizzare il virus vaccinale (lotto di semenza virale o lotto di vaccino) sia come additivi dei terreni della coltura cellulare, siano privi di anticorpi diretti contro i microrganismi elencati nella lista riportata di seguito e che non esercitino effetti inibitori su questi microrganismi.

Adenovirus aviari
Herpes virus del tacchino
Ortoreovirus aviari
Paramyxovirus aviari da 1 a 9
Virus 1 e 2 della borsite infettiva aviaria
Virus dell'anemia del pollo
Virus della bronchite infettiva aviaria
Virus dell'encefalomielite aviaria
Virus dell'enterite dell'anatra
Virus dell'enterite emorragica infettiva aviaria
Virus dell'epatite dell'anatra tipo I
Virus della laringotracheite infettiva aviaria
Virus della leucosi aviaria
Virus della malattia di Marek
Virus della nefrite aviaria
Virus della reticoloendoteliosi aviaria
Virus della rinotracheite del tacchino
Virus della sindrome della caduta dell'ovodeposizione
Virus del vaiolo dei gallinacci
Virus influenzali

Il siero non immune destinato ad essere aggiunto ai terreni di coltura può essere considerato come privo di anticorpi diretti contro uno di questi virus se è noto che esso non infetta la specie animale dalla quale il siero deriva. Non è dunque necessario effettuare una ricerca di questi anticorpi. I sierimmuni monospecifici destinati alla neutralizzazione virale possono essere considerati come privi di anticorpi diretti contro uno di questi virus se si può dimostrare che l'antigene immunizzante non può essere contaminato da antigeni che derivano da questo virus e se è noto che esso non infetta la specie animale dalla quale deriva il siero; non è dunque necessario effettuare una ricerca di questi anticorpi. Non è necessario controllare di nuovo i sieri ottenuti da animali provenienti da allevamenti esenti da patogeni specificati (EOPS) (5.2.2).

I lotti di siero preparati per la neutralizzazione del virus vaccinale non devono essere preparati a partire da un livello di passaggio corrispondente all'isolato virale, utilizzato per preparare il lotto di semenza primario, né preparati da un isolato moltiplicato nella stessa linea cellulare.

2.6.25. VACCINI VIRALI AVIARI VIVI: RICERCA DEGLI AGENTI ESTRANEI NEI LOTTI DI PRODOTTO FINITO

DISPOSIZIONI GENERALI

a) Nei saggi seguenti i polli e/o il materiale proveniente dai polli come le uova e le colture cellulari devono derivare da allevamenti di polli esenti da microrganismi patogeni specificati (EOPS) (5.2.2).

b) Le colture cellulari destinate ai saggi degli agenti estranei soddisfano ai requisiti relativi alle colture di cellule primarie specificate nel capitolo 5.2.4. *Colture cellulari per la produzione di vaccini per uso veterinario*, ad eccezione dei saggi del cariotipo e del potere tumorigeno che non devono essere effettuati.

c) Nei saggi che utilizzano colture cellulari, sono date indicazioni precise sul numero di colture, la superficie del monostrato cellulare e il tasso di sopravvivenza minimo. E' anche possibile scegliere un numero differente di colture o un'altra superficie cellulare purché siano utilizzate almeno 2 colture, la superficie totale e il volume totale della sostanza da esaminare applicati non siano inferiori a quanto prescritto in questo capitolo, e i requisiti del tasso di sopravvivenza siano adattati di conseguenza.

d) In questi saggi usare il vaccino liquido o ricostituire una quantità della preparazione liofilizzata da esaminare con il liquido indicato in etichetta o con un altro diluente come l'acqua per preparazioni iniettabili. Salvo indicazione diversa o giustificata, la sostanza in esame contiene una quantità di virus equivalente ad almeno 10 dosi di vaccino in 0,1 ml di inoculo.

e) Se il virus del vaccino può interferire con l'esecuzione e la sensibilità del saggio, neutralizzare il virus nella preparazione con un sierimmune monospecifico.

f) Dove specificato in una monografia o altrimenti giustificato, se è richiesta la neutralizzazione del virus del vaccino ma è difficile da raggiungere, i saggi *in vitro* descritti di seguito sono adattati, come richiesto, per fornire la necessaria garanzia di assenza di contaminazione da agenti estranei. In sostituzione o in aggiunta ai saggi *in vitro* sul lotto, può essere effettuato un saggio per gli agenti estranei sul siero di pollo ottenuto nel corso del saggio sul lotto di vaccino come descritto nel paragrafo 6. Saggio per la ricerca degli agenti estranei su pulcino del capitolo 2.6.24. *Vaccini virali aviari: ricerca degli agenti estranei nei lotti di semenza.*

g) I sierimmuni monospecifici e il siero di origine aviaria utilizzato per la coltura cellulare o per ogni altro scopo in ognuno di questi saggi, devono essere privi di anticorpi diretti contro i microrganismi presenti nella lista riportata di seguito al paragrafo 7. Specifiche degli anticorpi nei sieri utilizzati nel saggio degli agenti estranei (2.6.24) ed essere esenti dagli effetti inibitori sugli stessi microrganismi.

h) Altri tipi di saggio diversi da quelli indicati possono essere utilizzati purché essi abbiano almeno la stessa sensibilità di quelli indicati e siano di specificità appropriata. Le tecniche di amplificazione dall'acido nucleico (2.6.21) forniscono una rivelazione specifica per molti agenti e possono essere utilizzate dopo convalida della sensibilità e della specificità.

1. SAGGIO PER LA RICERCA DEGLI AGENTI ESTRANEI SU UOVA EMBRIONATE DI GALLINA

Preparare il vaccino in esame, diluito se necessario, in modo da ottenere una quantità di virus neutralizzato equivalente a 10 dosi di vaccino in 0,2 ml di inoculo. Possono essere aggiunti antibiotici appropriati. Inoculare il vaccino in esame in 3 gruppi di 10 uova embrionate di gallina nel modo di somministrazione riportato di seguito:

- gruppo 1: 0,2 ml di inoculo nella cavità allantoidea di ciascun uovo embrionato dell'età di 9-11 giorni,
- gruppo 2: 0,2 ml di inoculo sulla membrana corio-allantoidea di ciascun uovo embrionato dell'età di 9-11 giorni,
- gruppo 3: 0,2 ml di inoculo nel sacco vitellino di ciascun uovo embrionato dell'età di 5-6 giorni.

Osservare quotidianamente, per 7 giorni, le uova dei gruppi 1 e 2 e per 12 giorni quelle del gruppo 3.

Eliminare gli embrioni che muoiono durante le prime 24 h come morti non specifiche; il saggio è valido solo se almeno 6 embrioni di ciascun gruppo sopravvivono oltre le 24 h dall'inoculazione.

Eeguire un esame macroscopico di tutti gli embrioni morti dopo le prime 24 h, o che hanno superato il periodo di incubazione, per evidenziare eventuali anomalie. Esaminare anche le membrane corio-allantoidee di queste uova per evidenziare eventuali anomalie ed effettuare una ricerca degli agenti emoagglutinanti nel liquido allantoideo.

Effettuare un secondo passaggio su embrioni. Riunire separatamente i prodotti ottenuti dagli embrioni morti ed anormali e dagli embrioni vivi. Inoculare ciascuna miscela in 10 uova embrionate secondo ciascuno dei modi di somministrazione descritti precedentemente, utilizzando il materiale proveniente rispettivamente dalla membrana corio-allantoidea per l'inoculazione nel sacco vitellino, dai liquidi allantoidei per l'inoculazione nella cavità allantoidea e dall'embrione per l'inoculazione nel sacco di vitellino. Nel caso delle uova inoculate per via allantoidea e corio-allantoidea, osservare le uova quotidianamente per 7 giorni, procedendo ed esaminando come descritto precedentemente. Nel caso delle uova inoculate nel sacco vitellino, osservare quotidianamente le uova per 12 giorni, procedendo ed esaminando come descritto precedentemente.

Il lotto di vaccino soddisfa il saggio se nessun embrione presenta anomalie macroscopiche, né muore per cause attribuibili al vaccino in esame e se l'esame delle membrane corio-allantoidee e i saggi sui liquidi allantoidei non presentano alcuna indicazione della presenza di agenti estranei.

2. SAGGIO PER LA RICERCA DEGLI AGENTI ESTRANEI SU COLTURE DI CELLULE DI FIBROBLASTI DI EMBRIONI DI POLLO

Preparare 7 colture primarie o secondarie di fibroblasti di embrioni di pollo dell'età di 9-11 giorni sottoforma di monostrato cellulare di una superficie di circa 25 cm². Conservare 2 colture cellulari come controllo negativo e trattarle allo stesso modo delle 5 colture di cellule che sono state inoculate con la preparazione in esame come descritto di seguito. Eliminare il terreno di coltura quando le cellule raggiungono la confluenza. Inoculare 0,1 ml della preparazione in esame in ciascuno dei monostrati cellulari. Lasciare adsorbire per 1 h, aggiungere il terreno di coltura ed incubare le colture per un totale di almeno 21 giorni, effettuando una sottocoltura ad intervalli di 4-5 giorni. Ciascun passaggio è fatto con una miscela di cellule e di terreno di coltura di 5 monostrati cellulari dopo un ciclo di congelamento-scongelo. Inoculare 0,1 ml della miscela di materiale in ciascuno di altri 5 monostrati di circa 25 cm² preparati di recente a partire da fibroblasti di embrioni di pollo. Per l'ultimo passaggio, effettuare anche una sottocoltura su un substrato appropriato in modo da ottenere, da ciascun monostrato cellulare di origine, un tappeto cellulare di circa 10 cm² per effettuare il saggio A. Il saggio non è valido se meno dell'80

per cento dei monostrati cellulari sopravvive a ciascun passaggio, o se nessuna delle due colture di controllo negativo sopravvive a ciascun passaggio.

Procedere di frequente, durante tutto il periodo di incubazione, ad esami microscopici di tutte le colture cellulari per evidenziare eventuali segni di effetto citopatico o altre evidenze della presenza di agenti contaminanti nella soluzione in esame. Alla fine del periodo totale di incubazione, effettuare i saggi seguenti.

- A. Fissare e colorare (con Giemsa o ematossilina ed eosina) circa 10 cm² di cellule confluenti da ciascuno dei 5 monostrati di origine. Esaminare le cellule al microscopio per evidenziare ogni effetto citopatico, ogni corpo incluso, qualsiasi formazione sinciziale o ogni altra evidenza della presenza di agenti contaminanti nella preparazione in esame.
- B. Eliminare il terreno di coltura e lavare circa 25 cm² di cellule derivanti da ciascuno dei 5 monostrati. Ricoprire queste cellule con una sospensione allo 0,5 per cento di eritrociti di pollo lavati (utilizzare almeno 1 ml di sospensione per 5 cm² di cellule). Incubare le cellule a 4 °C per 20 min, poi lavarle con precauzione in soluzione salina fosfato tampinata a pH 7,4. Esaminare le cellule al microscopio per evidenziare un eventuale emoadsorbimento attribuibile alla presenza di agenti emoadsorbenti nel vaccino in esame.
- C. Effettuare un controllo su ciascun campione di fluido proveniente da ciascuna coltura cellulare utilizzando eritrociti di pollo, per evidenziare un'eventuale presenza di agenti emoagglutinanti nella preparazione in esame.

Il saggio non è valido se si evidenzia la presenza di segni di agenti estranei nelle colture utilizzate come controlli negativi. Il lotto di semenza soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza di agenti estranei.

3. SAGGIO PER LA RICERCA DEI VIRUS DELLA LEUCOSI AVIARIA

Preparare 11 monostrati di cellule epatiche a partire da embrioni di pollo dell'età di 14-16 giorni, aventi ciascuno una superficie di circa 25 cm². Eliminare il terreno di coltura quando le cellule raggiungono la confluenza. Inoculare 0,1 ml del vaccino in esame in ciascuno dei 5 monostrati (monostrati in esame). Lasciare adsorbire per 1 h e poi aggiungere il terreno di coltura. Inoculare 4 monostrati con un appropriato ceppo del virus della sindrome della caduta dell'ovode-

posizione (non più di 10 DICC₅₀ per 0,1 ml); questi monostrati servono come controlli positivi. Mantenere 2 monostrati non inoculati come controlli negativi.

Incubare le cellule per un totale di 21 giorni, effettuando delle sottocolture ogni 4-5 giorni. Ciascun passaggio è effettuato nel modo seguente: effettuare un ciclo di congelamento-scongelo; preparare separatamente delle miscele di cellule e dei liquidi dai monostrati in esame, dai monostrati di controllo positivo e dai monostrati di controllo negativo; inoculare 0,1 ml di ciascuna miscela in ciascuno dei 5, 4 e 2 monostrati di cellule epatiche di embrione di pollo preparati di recente aventi una superficie di circa 25 cm². Il saggio non è valido se meno di 4 dei 5 monostrati in esame o meno di 3 dei 4 controlli positivi o nessuno dei 2 monostrati di controllo negativo sopravvive dopo il passaggio.

Esaminare al microscopio, ad intervalli frequenti e durante l'intero periodo di incubazione, tutte le colture cellulari per ricercare eventuali segni di effetto citopatico o evidenziare la presenza di un agente contaminante nel vaccino in esame. Alla fine dell'intero periodo di incubazione effettuare la seguente procedura: con l'aiuto di eritrociti di pollo esaminare separatamente i liquidi di coltura preparati dai monostrati in esame, i monostrati di controllo positivo e i monostrati di controllo negativo per ricercare l'emoagglutinazione attribuibile alla presenza di agenti emoagglutinanti.

Il saggio non è valido se il virus della caduta dell'ovodeposizione è rivelato in 3 dei 4 monostrati di controllo positivo o in uno dei monostrati di controllo negativo o se i risultati per entrambi i 2 monostrati di controllo negativo sono non concludenti. Se più di uno dei monostrati in esame dà un risultato non concludente, effettuare ulteriori sottocolture dai monostrati messi da parte ed esaminarle fino ad ottenere un risultato non equivoco.

Il lotto di vaccino soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza del virus della caduta dell'ovodeposizione o di altri agenti estranei.

4. SAGGIO PER LA RICERCA DEL VIRUS DELLA MALATTIA DI MAREK

Preparare 11 monostrati primari o secondari di fibroblasti di embrione di pollo dell'età di 9-11 giorni, ciascuno con un'area di circa 25 cm². Eliminare il terreno di coltura quando le cellule hanno raggiunto la confluenza. Inoculare 0,1 ml di vaccino in esame in 5 di queste colture (colture in esame). Lasciare adsorbire

per 1 h e poi aggiungere il terreno di coltura. Inoculare in altre 4 colture un ceppo appropriato di virus della malattia di Marek (non più di 10 DICC₅₀ per 0,1 ml), queste colture serviranno come controlli positivi. Mantenere due monostrati non inoculati come controlli negativi.

Incubare le colture per un totale di almeno 21 giorni, effettuando delle sottocolture ogni 4-5 giorni nel modo seguente: trattare le cellule con tripsina e preparare separatamente delle miscele dei monostrati in esame, dei monostrati dei controlli positivi e dei monostrati dei controlli negativi.

Mescolare un'adeguata quantità di ciascuna sospensione con una sospensione, preparata di recente, di fibroblasti primari o secondari di embrione di pollo; preparare rispettivamente 5, 4 e 2 monostrati come indicato precedentemente. Il saggio non è valido se meno di 4 dei 5 monostrati in esame o meno di 3 dei 4 controlli positivi o nessuno dei 2 monostrati di controllo negativo sopravvive dopo ciascun passaggio.

Esaminare al microscopio di frequente tutte le colture cellulari durante l'intero periodo di incubazione per evidenziare qualsiasi segno di effetto citopatico o ogni altra evidenza della presenza di un agente estraneo nel vaccino in esame.

Preparare l'ultima sottocoltura su un substrato appropriato in modo da ottenere un'area di circa 10 cm² di cellule confluenti derivate da ciascuno degli 11 monostrati di origine per il seguente saggio: effettuare una ricerca del virus della malattia di Marek mediante immunocolorazione su circa 10 cm² di cellule confluenti derivate da ciascuna delle 11 colture iniziali. Il saggio non è valido se il virus della malattia di Marek è evidenziato in 3 dei 4 monostrati di controllo positivo o in nessuno dei monostrati di controllo negativo o se i 2 monostrati di controllo negativo danno risultati non conclusivi.

Il lotto di vaccino soddisfa il saggio se non si evidenzia la presenza del virus della malattia di Marek o di altri agenti estranei.

5. SAGGIO PER LA RICERCA DEL VIRUS DELLA RINOTRACHEITE DEL TACCHINO

A. Saggio su fibroblasti di embrioni di pollo.

NOTA: Questo saggio può essere combinato con il Saggio 2 usando gli stessi monostrati in esame e i controlli negativi per tutte le fasi fino al saggio finale

specifico per la ricerca del virus della rinotracheite del tacchino su cellule preparate dall'ultima sottocoltura.

Preparare 11 monostrati primari o secondari di fibroblasti di embrioni di pollo dell'età di 9-11 giorni ciascun monostrato ha un'area di circa 25 cm². Eliminare il terreno di coltura alla confluenza. Inoculare 0,1 ml di vaccino in esame a 5 di queste colture (colture in esame). Lasciare adsorbire per 1 h e poi aggiungere il terreno di coltura. Inoculare 4 dei monostrati con un ceppo appropriato del virus della rinotracheite del tacchino (non più di 10 DICC₅₀ per 0,1 ml). Mantenere 2 monostrati non inoculati come controlli negativi.

Incubare le colture per un totale di almeno 21 giorni, effettuando delle sottocolture ad intervalli di 4-5 giorni nel modo seguente: effettuare un ciclo di congelamento-scongelo; preparare separatamente delle miscele di cellule e dei liquidi dai monostrati in esame, dai monostrati utilizzati come controllo positivo e dai monostrati di controllo negativo; inoculare 0,1 ml della miscela di materiale in ciascuno dei 5, 4 e 2 monostrati di fibroblasti di embrione di pollo preparati di recente ed aventi una superficie di circa 25 cm². Il saggio non è valido se meno di 4 dei 5 monostrati in esame o meno di 3 dei 4 controlli positivi o nessuno dei 2 monostrati di controllo negativo sopravvive dopo ogni passaggio.

Preparare l'ultima sottocoltura su un supporto appropriato in modo da ottenere una superficie di 10 cm² di cellule confluenti a partire da ciascuno degli 11 monostrati di origine per il saggio seguente: effettuare una ricerca del virus della rinotracheite del tacchino mediante immunocolorazione per il saggio seguente: effettuare una ricerca del virus della rinotracheite mediante immunocolorazione su 10 cm² circa di cellule confluenti derivate da ciascuno degli 11 monostrati di origine.

Il saggio non è valido se il virus della rinotracheite del tacchino è rivelato in meno di 3 dei 4 monostrati di controllo positivo o in nessuno dei monostrati di controllo negativo o se i risultati di entrambi i 2 monostrati di controllo negativo sono non conclusivi. Se i risultati dei 2 monostrati in esame sono non conclusivi, effettuare delle nuove

sottocolture a partire dalle porzioni di fibroblasti conservate ed esaminarle fino ad ottenere un risultato inequivocabile.

Il lotto di vaccino soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza del virus della rinotracheite del tacchino di un altro agente estraneo.

B. Saggio su cellule Vero.

Preparare 11 monostrati di cellule Vero, ciascuno con una superficie di circa 25 cm². Eliminare il terreno di coltura alla confluenza. Inoculare 0,1 ml di vaccino in 5 di questi monostrati (monostrati in esame). Lasciare adsorbire per 1 h ed aggiungere il terreno di coltura. Inoculare 4 monostrati con un ceppo appropriato del virus della rinotracheite del tacchino (non più di 10 DICC₅₀ in 0,1 ml) come controlli positivi. Mantenere 2 monostrati non inoculati come controlli negativi.

Incubare le colture per almeno 21 giorni totali, effettuare delle sottocolture ad intervalli di 4-5 giorni. Effettuare ciascun passaggio nel modo seguente: effettuare un ciclo di congelamento-scongelo; preparare miscele separate delle cellule e dei fluidi ottenuti dal monostrato in esame, dai monostrati di controllo positivo e dai monostrati di controllo negativo. Inoculare 0,1 ml della miscela di materiale in ciascuno dei 5, 4 e 2 monostrati, preparati di recente, di cellule Vero aventi una superficie di circa 25 cm². Il saggio non è valido se sopravvivono a ciascun passaggio meno di 4 dei 5 monostrati in esame o meno di 3 dei 4 controlli positivi o nessuno dei 2 controlli negativi.

Preparare l'ultima sottocoltura su un substrato appropriato in modo da ottenere una superficie di circa 10 cm² di cellule confluenti da ciascuno degli 11 monostrati iniziali per il saggio seguente: sottoporre a saggio circa 10 cm² di cellule confluenti ottenute da ciascuno degli 11 monostrati iniziali mediante immunocolorazione per evidenziare la presenza del virus della rinotracheite del tacchino. Il saggio non è valido se il virus della rinotracheite del tacchino è evidenziato in meno di 3 dei 4 monostrati di controllo positivo o in nessuno dei monostrati di controllo negativo, o se i risultati di entrambi i 2 monostrati di controllo negativo sono inconcludenti. Se più di una coltura inoculata con il vaccino dà un risultato non concludente, effet-

tuare sottocolture successive di porzioni di monostrato cellulare ed esaminarle fino ad ottenere un risultato inequivocabile.

Il lotto di vaccino soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza del virus della rinotracheite del tacchino o qualsiasi altro agente estraneo.

6. SAGGIO PER LA RICERCA DEL VIRUS DELL'ANEMIA DEL POLLO

Preparare 11 sospensioni di 20 ml della linea cellulare MDCC-MSBI o di un'altra linea cellulare di sensibilità equivalente in palloni da 25 cm² in modo da ottenere circa 5×10⁵ cellule per millilitro. Inoculare 0,1 ml di vaccino in esame nelle sospensioni in 5 di questi palloni. Inoculare 10 DICC₅₀ di virus dell'anemia del pollo in 4 sospensioni che servono da controllo positivo. Conservare almeno 2 sottocolture non infettate. Incubare tutte le colture per almeno 24 giorni, effettuando 8 sottocolture ad intervalli di 3-4 giorni. Durante l'allestimento delle sottocolture la presenza del virus dell'anemia del pollo può essere evidenziata mediante cambiamento del colore, di origine metabolica, nelle colture infettate e il terreno di coltura appare di colore rosso rispetto a quello delle colture di confronto. Ricercare al microscopio un eventuale effetto citopatico nelle colture.

Dopo questo esame o alla fine del periodo di incubazione, centrifugare a bassa velocità il contenuto di ciascun flacone, poi rimettere in sospensione le cellule a circa 10⁶ cellule/ml e trasferire 25 µl delle diverse sospensioni in 10 pozzetti di una piastra a più pozzetti. Esaminare le cellule dopo immunocolorazione.

Il saggio non è valido se il virus dell'anemia del pollo è rivelato in meno di 3 dei 4 controlli positivi o in nessuna delle colture non inoculate. Se più di una coltura infettata con il vaccino dà un risultato non concludente effettuare nuove sottocolture della sospensione in esame iniziale ed esaminarle fino ad ottenere un risultato inequivocabile.

Il lotto di vaccino soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza del virus dell'anemia del pollo.

7. RICERCA DEL VIRUS DELL'ENTERITE DELL'ANATRA

Effettuare il saggio seguente sui vaccini preparati su substrati di anatra o oca.

Preparare 11 monostrati di cellule epatiche primarie o secondarie di embrioni di anatra Muscovy (fr. Barba-

rie) di 21-22 giorni, ciascuno dei quali ha una superficie di 25 cm² circa. Eliminare il terreno di coltura alla confluenza. Inoculare 0,1 ml di vaccino in esame in 5 di queste colture (colture in esame).

Lasciare adsorbire per 1 h, poi aggiungere il terreno di coltura. Inoculare in 4 colture un ceppo appropriato del virus dell'enterite dell'anatra (al massimo 10 DICC₅₀ per 0,1 ml) ed utilizzare queste colture come controlli positivi. Conservare 2 colture non inoculate come controllo negativo.

Incubare le colture per un totale di almeno 21 giorni, effettuando delle sottocolture ad intervalli di 4-5 giorni. Effettuare ciascun passaggio nel modo seguente: trattare le cellule con tripsina e preparare separatamente miscele delle cellule ottenute dai monostrati in esame, dai monostrati di controllo positivo e dai monostrati di controllo negativo. Mescolare una porzione di ciascuna sospensione con una sospensione preparata di recente di cellule primarie o secondarie di embrione di anatra di Muscovy (fr. Barbarie) in modo da preparare 5, 4 e 2 monostrati, come precedentemente descritto. Il saggio non è valido se meno di 4 delle 5 colture in esame o meno di 3 dei 4 controlli positivi o nessuno dei 2 controlli negativi sopravvive dopo ogni passaggio.

Per l'ultima sottocoltura, far crescere le cellule su un substrato appropriato in modo da ottenere un'area di circa 10 cm² di cellule confluenti ottenute da ciascuno degli 11 monostrati iniziali per il seguente saggio: effettuare la ricerca del virus dell'enterite dell'anatra mediante immunocolorazione su 10 cm² circa di cellule confluenti derivate dagli 11 monostrati di origine. Il saggio non è valido se il virus dell'enterite dell'anatra è rivelato in meno di 3 dei 4 monostrati di controllo positivo o in nessuno dei monostrati di controllo negativo o se i risultati di entrambi i monostrati di controllo negativo non forniscono evidenze concludenti. Se più di un monostrato in esame fornisce risultati non concludenti, devono essere effettuate delle nuove sottocolture a partire dalle porzioni conservate dei monostrati e sottoposte a saggio fino ad ottenere risultati inequivocabili.

Il lotto di vaccino soddisfa al saggio se non c'è evidenza della presenza del virus dell'enterite dell'anatra o di qualsiasi altro agente estraneo.

8. SAGGIO PER LA RICERCA DEI PARVOVIRUS DELL'ANATRA E DELL'OCA

Questo saggio è effettuato sui vaccini preparati utilizzando substrati di anatra o di oca.

Preparare una sospensione di una quantità sufficiente di fibroblasti primari o secondari di embrione di anatra di Muscovy ottenuti da tessuti di embrioni dell'età di 16-18 giorni, in modo da ottenere almeno 11 monostrati, ciascuno dell'area di circa 25 cm². Inoculare 0,5 ml del vaccino in esame in un'aliquota di cellule appropriata a formare 5 monostrati e seminarle in 5 recipienti in modo da ottenere 5 monostrati in esame. Inoculare 0,4 ml di un ceppo appropriato di parvovirus di anatra (non più di 10 DICC₅₀ in 0,1 ml) in un'aliquota di cellule appropriata per formare 4 monostrati e seminarle in 4 recipienti in modo da ottenere 4 monostrati di controllo positivo. Preparare 2 monostrati non inoculati come controlli negativi.

Incubare le colture per un totale di almeno 21 giorni, effettuare delle sottocolture ad intervalli di 4-5 giorni. Effettuare ciascun passaggio nel modo seguente: effettuare un ciclo di congelamento-scongelo; preparare separatamente miscele delle cellule e dei fluidi ottenuti dai monostrati in esame, dai monostrati di controllo positivo e dai monostrati di controllo negativo. Inoculare 0,5 ml, 0,4 ml e 0,2 ml della miscela di materiali in aliquote di una sospensione preparata di recente di una quantità sufficiente di fibroblasti primari o secondari di embrione di anatra Muscovy in modo da preparare 5, 4 e 2 monostrati, come precedentemente descritto. Il saggio non è valido se meno di 4 dei 5 monostrati in esame o meno di 3 dei 4 controlli positivi o nessuno dei 2 controlli negativi sopravvive dopo ciascun passaggio.

Per l'ultima sottocoltura, coltivare le cellule su un substrato appropriato in modo da ottenere un'area di circa 10 cm² di cellule confluenti ottenute da ciascuno degli 11 monostrati iniziali per il seguente saggio: effettuare la ricerca del parvovirus di anatra e di oca mediante immunocolorazione sui 10 cm² circa di cellule confluenti derivate dagli 11 monostrati di origine. Il saggio non è valido se il parvovirus di anatra è rivelato in meno di 3 dei 4 monostrati di controllo positivo o in nessuno dei controlli negativi, o se i risultati per ognuno dei 2 controlli negativi sono non concludenti.

Il lotto di vaccino soddisfa al saggio se non c'è evidenza della presenza del parvovirus di anatra (oppure oca) o di qualsiasi altro agente estraneo

2.6.26. SAGGIO PER GLI ANTICORPI ANTI-D NELLA IMMUNOGLOBULINA UMANA PER SOMMINISTRAZIONE ENDOVENOSA

MATERIALI

Soluzione salina tamponata fosfato (PBS). Disciogliere 8,0 g di sodio cloruro R, 0,76 g di sodio fosfato dibasico anidro R, 0,2 g di potassio cloruro R e 0,2 g di potassio fosfato monobasico R in acqua R e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente. Se la soluzione non viene utilizzata per alcuni giorni, si possono aggiungere 0,2 g di sodio azide R per prevenire la contaminazione microbica.

Papaina soluzione. Utilizzare una soluzione di grado sierologico disponibile in commercio, l'attività della quale deve essere stata convalidata.

Eritrociti. Utilizzare una miscela di eritrociti D-positivi ottenuti da almeno 3 donatori preferibilmente del gruppo OR₂R₂. Gli eritrociti D-positivi possono anche essere ottenuti da donatori OR₁R₁ o OR₁R₂. La miscela di fenotipi non è stata sottoposta a saggio e comunque non è raccomandato l'utilizzo.

Utilizzare una miscela di eritrociti D-negativi, ottenuti preferibilmente da 3 donatori dal gruppo Orr. Quando è disponibile solo un donatore Orr, possono essere utilizzati eritrociti D-negativi ottenuti da un solo donatore.

Lavare le cellule per quattro volte con la soluzione PBS o fino ad ottenere un sovrantante limpido. Centrifugare le cellule a 1800 g per 5 min in modo da ottenere un deposito di cellule. Trattare il deposito cellulare con la soluzione di papaina secondo le istruzioni fornite dal fabbricante. Conservare nella soluzione di Alsever per non più di una settimana.

Piastre di microtitolazione. Utilizzare delle piastre rigide di microtitolazione con pozzetti con il fondo a forma di V.

Standard di riferimento. L'immunoglobulina (per il saggio degli anticorpi anti-D) PBR e l'immunoglobulina (controllo negativo per il saggio degli anticorpi anti-D) PBR sono appropriate, rispettivamente, per l'uso come preparazione di riferimento e come controllo negativo.

METODO

Effettuare il saggio descritto in questo capitolo a temperatura ambiente sulle soluzioni di riferimento, sulle soluzioni di controllo negativo e sulle soluzioni in esame contemporaneamente e nelle stesse condizioni.

Soluzioni di riferimento e soluzioni del controllo negativo. Ricostituire la preparazione di riferimento e la soluzione del controllo negativo secondo le istruzioni. La concentrazione di immunoglobulina G (IgG) è 50 g/l in ciascuna preparazione ricostituita. Preparare una diluizione 1:2 di ciascuna preparazione ricostituita con la soluzione PBS contenente 2 g/l di albumina bovina R, in modo da ottenere soluzioni contenenti 25 g/l di IgG.

Preparare altre 7 diluizioni 1:2 di ciascuna preparazione usando la soluzione PBS contenente 2 g/l di albumina bovina R in modo da ampliare l'intervallo di diluizione fino a 1/256 (0,195 g/l IgG). Deposare 20 µl di ciascuna diluizione in una serie di pozzetti della piastra di microtitolazione.

Soluzioni in esame. Diluire la preparazione in esame con la soluzione PBS contenente 2 g/l di albumina bovina R in modo da ottenere una concentrazione iniziale di IgG di 25 g/l. Effettuare una diluizione 1:2 delle preparazioni 50 g/l, mentre per le preparazioni a concentrazione diversa da 50 g/l adattare il fattore di diluizione in modo da ottenere una concentrazione 25 g/l. Per permettere il confronto con le soluzioni di riferimento, attribuire una diluizione 1:2 a questa soluzione 25 g/l, anche se essa non riflette la diluizione realmente applicata per ottenere una concentrazione 25 g/l. Preparare altre 7 diluizioni 1:2 in serie usando la soluzione PBS contenente 2 g/l di albumina bovina R in modo da ampliare l'intervallo normale di diluizione fino a 1/256 (0,195 g/l IgG) che può essere confrontato con l'intervallo di diluizioni della preparazione di riferimento che ha lo stesso intervallo di concentrazione di IgG. Preparare 2 serie indipendenti di diluizioni. Deposare 20 µl di ciascuna diluizione in una delle serie di pozzetti della piastra di microtitolazione.

Preparare delle sospensioni al 3 per cento V/V, nella soluzione PBS contenente 2 g/l di albumina bovina R, di eritrociti D-positivi preferibilmente OR₂R₂, ma possono anche essere utilizzati eritrociti OR₁R₁ e OR₁R₂ e D-negativi (Orr) trattati con papaina. Aggiungere 20 µl di eritrociti D-positivi ad una delle serie di diluizioni di ciascun campione in esame, della preparazione di riferimento e del controllo negativo e 20 µl di eritrociti D-negativi all'altra serie di diluizioni di ciascun campione in esame, della preparazione di riferimento e del controllo negativo. Mescolare ponendo le piastre su un agitatore per 10 secondi.

Centrifugare la piastra a 80 g per 1 min in modo da ottenere un deposito cellulare.

Inclinare la piastra con un angolo di circa 70°. Leggere i risultati dopo almeno 3 min e dopo osservazione dello scorrimento cellulare nei pozzetti contenenti le diluizioni del controllo negativo e nei pozzetti dove sono stati aggiunti gli eritrociti D-negativi. La presenza di un agglutinazione cellulare solida sul fondo dei pozzetti rappresenta un risultato positivo e l'osservazione di uno scorrimento cellulare rappresenta un risultato negativo.

Registrare il titolo al punto finale come l'inverso della diluizione più alta che dà un risultato positivo.

Il titolo del controllo negativo non deve essere superiore a 2, in caso contrario deve essere effettuata un'indagine dei reattivi e delle condizioni di saggio utilizzate.

Il titolo della preparazione in esame non deve essere superiore al titolo della preparazione di riferimento, quando tutte le preparazioni sono titolate a partire da una concentrazione iniziale di 25 g/l.

2.6.27. CONTROLLO MICROBIOLOGICO DEI PRODOTTI CELLULARI

Questo saggio si è dimostrato preferibile rispetto al saggio di sterilità (2.6.1) per alcuni prodotti cellulari poiché ha una migliore sensibilità, un intervallo più ampio ed è più rapido. Questo saggio è applicato in sostituzione del saggio di sterilità (2.6.1) quando è descritto nella monografia. Può essere effettuato manualmente o usando un sistema automatizzato.

PRESCRIZIONI GENERALI

Il saggio è realizzato in condizioni asettiche in accordo con le regolamentazioni in vigore per i materiali potenzialmente infettanti.

Le precauzioni prese per evitare la contaminazione microbica devono essere tali che non influenzino i microrganismi che devono essere rivelati nel saggio. Il saggio è effettuato in condizioni di lavoro che devono essere regolarmente verificate mediante prelievo appropriato di campioni, effettuato nell'area di lavoro, e mediante controlli appropriati.

SAGGIO DI FERTILITÀ DEL TERRENO

Utilizzare almeno due terreni di coltura arricchiti appropriati (per esempio, terreni per emocoltura) destinati alla rivelazione di funghi e batteri aerobi e anaerobi.

Confermare la sterilità di ciascun lotto di terreno mediante incubazione di recipienti rappresentativi a 35-37 °C per almeno 7 giorni.

Su ciascun terreno di coltura è effettuato un saggio di fertilità da parte del fornitore e/o dell'utilizzatore inoculando 2 recipienti di saggio di ciascun terreno con 10-100 microrganismi vitali di ciascuno dei ceppi riportati nella tabella 2.6.27-1, poi incubare a 35-37 °C per 7 giorni per la rivelazione automatizzata o per 14 giorni per la rivelazione visiva della crescita microbica. I terreni di coltura sono soddisfacenti se si osserva una chiara crescita microbica, durante questo periodo di incubazione, in tutti i recipienti di terreni inoculati.

Tabella 2.6.27-1. *Microrganismi utilizzati per il saggio di fertilità dei terreni*

Terreno aerobio

<i>Staphylococcus aureus</i>	per esempio, ATCC 6538, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518
<i>Bacillus subtilis</i>	per esempio, ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	per esempio, ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118
<i>Candida albicans</i>	per esempio, ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179
<i>Aspergillus niger</i>	per esempio, ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007

Terreno anaerobio

<i>Clostridium sporogenes</i>	per esempio, ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532 o ATCC 11437
<i>Bacteroides fragilis</i>	per esempio, ATCC 25285, CIP 77.16, NCTC 9343

CONVALIDA DEL METODO

In funzione del tipo di prodotto, del suo metodo di preparazione, del volume di inoculo utilizzato e del tipo di sistema di dosaggio, deve essere considerata la necessità di convalida in presenza del tipo di preparazione da esaminare. Salvo indicazione giustificata ed autorizzata, il sistema di dosaggio è convalidato in termini di specificità (assenza di risultati falsi positivi), di sensibilità (limiti di rivelazione) e di riproducibilità. Durante la convalida e in particolare per la determinazione del limite di rivelazione, il saggio è effettuato sulla preparazione deliberatamente contaminata a gradi diversi con i microrganismi riportati di seguito, scelti per la loro probabilità di essere contaminanti e i loro requisiti di crescita:

- *Aspergillus niger*, per es., ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007;
- *Bacillus subtilis*, per es., ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054;
- *Candida albicans*, per es., ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179;
- *Clostridium sporogenes*, per es., ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532 o ATCC 11437;
- *Propionibacterium acnes*, per es., ATCC 11827;
- *Pseudomonas aeruginosa*, per es., ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118;
- *Staphylococcus aureus*, per es., ATCC 6538, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518;
- *Streptococcus pyogenes*, per es., ATCC 19615, CIP 1042.26, NCIMB 13285;
- *Yersinia enterocolitica*, per es., ATCC 9610, CIP 80.27, NCTC 12982.

Può essere necessario modificare questa lista di microrganismi in funzione dell'origine delle cellule e di ogni microrganismo rivelato precedentemente o associato al tipo di cellule considerate.

Possano essere utilizzati altri tipi di approcci rispetto alla convalida, per esempio, il confronto tra laboratori.

DOSAGGIO DELLA PREPARAZIONE IN ESAME

Campione. Esaminare un campione rappresentativo contenente le cellule e/o il terreno da esaminare. Una volta prelevato il campione deve essere aggiunto al terreno di coltura nel tempo più breve possibile. Se esso

non è aggiunto prontamente dopo il prelievo è conservato a 5 ± 3 °C al fine di evitare la fagocitosi dei microrganismi da parte di cellule presenti in alcuni tipi di prodotti (per esempio neutrofili).

Per i prodotti ematopoietici, la quantità minima di prodotto da utilizzare per il saggio in funzione del volume totale del prodotto (V ml) è riportata di seguito.

Volume totale di prodotto (millilitri)	Volume dell'inoculo
$V \geq 10$	1 per cento del volume totale
$1 \leq V < 10$	100 μ l
$V < 1$	non applicabile

Per i prodotti ematopoietici che richiedono una diluizione prima del congelamento, il volume dell'inoculo deve essere aumentato in funzione del fattore di diluizione. Per altri prodotti cellulari le quantità minime appropriate sono definite in termini di volume o di numero di dosi.

Analisi. Inoculare i recipienti contenenti il terreno di coltura con i campioni il più presto possibile dopo il prelievo, poi incubare a 35-37 °C per almeno 7 o 14 giorni in funzione del sistema di rivelazione utilizzato. Aggiungere una parte appropriata dell'inoculo in un terreno per coltura in condizioni aerobiche e aggiungere la restante parte dell'inoculo in un terreno per coltura in condizioni anaerobiche.

OSSERVAZIONE ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare i terreni, visivamente o mediante sistemi automatizzati, almeno 1 volta al giorno e alla fine del periodo di osservazione per rivelare i segni di una eventuale crescita microbica. Se non si osserva una crescita microbica durante o alla fine del periodo di osservazione, il prodotto è "negativo in coltura" al limite di rivelazione. Se si osserva una crescita nell'ambito di un saggio valido, il prodotto è "positivo in coltura"; il contaminante è identificato ad un livello tassonomico appropriato (genere, specie) e viene stabilito un antibiogramma.

2.7. Dosaggi biologici

2.7.	Dosaggi biologici.	263	2.7.18.	Dosaggio del fattore II della coagulazione del sangue umano.	300
2.7.1.	Metodi immunochimici	263	2.7.19.	Dosaggio del fattore X della coagulazione del sangue umano.	300
2.7.2.	Dosaggio microbiologico degli antibiotici.	265	2.7.20.	Dosaggio <i>in vivo</i> del vaccino inattivato della poliomelite.	301
2.7.4.	Dosaggio del fattore VIII della coagulazione del sangue umano	272	2.7.21.	Dosaggio del fattore di von Willebrand umano	303
2.7.5.	Dosaggio dell'eparina	273	2.7.22.	Dosaggio del fattore XI della coagulazione del sangue umano	305
2.7.6.	Dosaggio del vaccino difterico adsorbito	274	2.7.23.	Numerazione delle cellule CD34/CD45 + nei prodotti ematopoietici.	306
2.7.7.	Dosaggio del vaccino pertossico . . .	282	2.7.24.	Citometria a flusso	308
2.7.8.	Dosaggio del vaccino tetanico adsorbito	282	2.7.25.	Dosaggio dell'inibitore della plasmina umana	310
2.7.9.	Saggio della funzione Fc dell'immunoglobulina	289	2.7.27.	Indice di flocculazione (Lf) delle tossine e delle anatossine difterica e tetanica (dosaggio Ramon)	311
2.7.10.	Dosaggio del fattore VII della coagulazione del sangue umano	290	2.7.28.	Determinazione quantitativa delle cellule progenitrici ematopoietiche umane che formano colonie.	312
2.7.11.	Dosaggio del fattore IX della coagulazione del sangue umano	292	2.7.29.	Conta e vitalità delle cellule nucleate	314
2.7.12.	Dosaggio dell'eparina nei fattori della coagulazione	292	2.7.30.	Dosaggio della proteina C umana	316
2.7.13.	Dosaggio dell'immunoglobulina umana anti-D	293	2.7.31.	Dosaggio della proteina S umana	318
2.7.14.	Dosaggio del vaccino dell'epatite A	297	2.7.32.	Dosaggio dell'inibitore dell' α -1-proteinasi umana.	319
2.7.15.	Dosaggio del vaccino dell'epatite B (rDNA)	297			
2.7.16.	Dosaggio del vaccino pertossico acellulare	298			
2.7.17.	Dosaggio dell'antitrombina III umana	299			

2.7. DOSAGGI BIOLOGICI

2.7.1. METODI IMMUNOCHIMICI

I metodi immunochimici sono basati sul legame selettivo, reversibile e non covalente tra gli antigeni e gli anticorpi. Questi metodi sono impiegati per rivelare o quantificare gli antigeni e gli anticorpi. La formazione del complesso antigene-anticorpo può essere rivelata e la quantità del complesso formato può essere misurata con tecniche varie. Le indicazioni di questo metodo generale si applicano ai metodi immunochimici che usano reattivi marcati o no, a seconda del caso.

I risultati dei metodi immunochimici dipendono dalle condizioni sperimentali, dalla natura e dalla qualità dei reattivi usati. È essenziale standardizzare i componenti di un dosaggio immunologico e usare, se disponibili, preparazioni di riferimento internazionali per i dosaggi immunologici.

I reattivi necessari per molti metodi immunologici sono disponibili in commercio come *kits* di dosaggio, cioè un insieme che comprende i reattivi (in particolare l'antigene e l'anticorpo) ed i materiali destinati alla determinazione *in vitro* di una sostanza specifica, oltre alle istruzioni per il loro uso corretto. I *kits* sono usati in accordo con le istruzioni del produttore; è importante accertare che essi siano appropriati all'analisi della sostanza da esaminare con particolare riferimento alla selettività ed alla sensibilità. Direttive riguardanti i *kits* per dosaggi immunologici sono fornite dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, Serie Rapporti Tecnici 658 (1981).

METODI NEI QUALI SI UTILIZZA UN ANTIGENE MARCATO O UN ANTICORPO MARCATO

I metodi che usano sostanze marcate possono impiegare marcatori appropriati come enzimi, fluorofori, luminofori e radioisotopi. Nel caso in cui il marcatore sia un radioisotopo il metodo è descritto come un "dosaggio radioimmunologico". Le raccomandazioni per la misura della radioattività riportate nella monografia *Preparazioni radiofarmaceutiche (0125)* si applicano ai dosaggi immunologici che impiegano i radioisotopi. L'intero lavoro con i materiali radioattivi deve essere fatto in conformità con la legislazione nazionale e con norme di buona pratica, accettate internazionalmente, per la protezione dai rischi di radiazione.

METODI NEI QUALI SI UTILIZZA UN ANTIGENE NON MARCATO O UN ANTICORPO NON MARCATO

Metodi di immunoprecipitazione

I metodi di immunoprecipitazione comprendono le reazioni di flocculazione e di precipitazione. Quando una *soluzione* di un antigene è mescolata con il suo anticorpo corrispondente in condizioni appropriate, i reattivi formano aggregati che flocculano o precipitano. Il rapporto tra le quantità dei reattivi che producono il tempo di flocculazione più corto o la precipitazione più netta è chiamato rapporto ottimale ed è generalmente prodotto da quantità equivalenti di antigene e di anticorpo. L'immunoprecipitazione può essere valutata visivamente o mediante tecniche di diffusione della luce (dosaggio per nefelometria o turbidimetria). Un aumento di sensibilità può essere ottenuto usando come reattivi particelle rivestite di antigene o di anticorpo (per es. il lattice).

Nei metodi di flocculazione si usano generalmente diluizioni graduali di uno dei reattivi mentre nei metodi di immunodiffusione (ID) la diluizione è ottenuta mediante diffusione in un gel: si ottengono gradienti di concentrazione di uno o entrambi i reattivi in modo da creare delle zone nel gel dove il rapporto dei reattivi favorisce la precipitazione. Mentre i metodi di flocculazione si effettuano in provette, i metodi di immunodiffusione possono essere effettuati usando supporti differenti come provette, piastre, celle o camere.

Nel caso in cui il sistema di immunoprecipitazione consiste di un antigene che si combina con il corrispondente anticorpo, il sistema è definito *semplice*; quando esso prevede reattivi correlati ma non identici dal punto di vista sierologico il sistema è *complesso* e quando sono previsti alcuni reattivi non correlati dal punto di vista sierologico il sistema è *multiplo*.

Nei *metodi di diffusione semplice* si stabilisce un gradiente di concentrazione per uno solo dei reattivi che diffonde da una sorgente esterna nel gel contenente il reattivo corrispondente ad una concentrazione relativamente bassa.

L'*immunodiffusione radiale singola* (IDRS) è una semplice tecnica quantitativa di immunodiffusione. Quando si stabilisce l'equilibrio tra il reattivo esterno e quello interno, l'area di precipitazione circolare, che si origina a partire dal reattivo esterno, è direttamente proporzionale alla quantità di antigene applicata ed inversamente proporzionale alla concentrazione dell'anticorpo nel gel.

Nei *metodi di diffusione doppia* i gradienti di concentrazione si stabiliscono per entrambi i reattivi. Sia l'antigene che l'anticorpo diffondono da siti distinti in un gel inizialmente neutro dal punto di vista immunologico.

I *metodi comparativi di diffusione doppia* sono usati per il confronto qualitativo di diversi antigeni rispetto ad un anticorpo appropriato e viceversa. Il confronto è basato sulla presenza o l'assenza di interazione tra le zone di precipitazione. Si possono distinguere reazioni di identità, non identità o parziale identità antigene/anticorpo.

Metodi immunoelettroforetici

L'*immunoelettroforesi* (IE) è una tecnica qualitativa che combina due metodi: l'elettroforesi su gel seguita dall'immunodiffusione.

L'*immunoelettroforesi crociata* è una modificazione del metodo di immunoelettroforesi. È appropriata sia per l'analisi qualitativa che quantitativa. La prima parte della procedura è una normale elettroforesi su gel dopo la quale una striscia longitudinale di gel, contenente le frazioni separate da determinare, è tagliata e trasferita su un'altra piastra. L'elettroforesi nella seconda direzione è effettuata perpendicolarmente alla precedente corsa elettroforetica in un gel contenente l'anticorpo corrispondente all'antigene ad una concentrazione relativamente più bassa. Per una data concentrazione di anticorpo ed un dato spessore del gel, la relazione tra l'area dei rispettivi picchi di precipitazione e la quantità di antigene corrispondente è lineare.

L'*elettroimmunodosaggio*, spesso riportato come *immunoelettroforesi a cono*, è un metodo quantitativo rapido per la determinazione di antigeni con una carica che differisce da quella degli anticorpi e viceversa. L'elettroforesi dell'antigene che si deve determinare è effettuata in un gel contenente una concentrazione relativamente più bassa dell'anticorpo corrispondente. Il materiale in esame e le diluizioni dell'antigene standard usato per la curva di taratura sono introdotti in differenti pozzetti del gel. Durante l'elettroforesi si formano delle zone di precipitazione a forma conica che migrano a partire dai pozzetti. Il fronte del precipitato diventa stazionario quando l'antigene non è più in eccesso. Per una data concentrazione di anticorpo, la relazione tra la distanza percorsa dal precipitato e la quantità di antigene applicata è lineare.

La *contro-immunoelettroforesi* è un metodo quantitativo rapido che permette di stabilire gradienti di concentrazione di antigeni esterni e di anticorpi esterni in un campo elettrico a seconda delle diverse cariche. Le diluizioni dello standard per la taratura e le diluizioni del materiale in esame sono introdotte in una serie di pozzetti allineati nel gel ed una quantità fissa del reattivo corrispondente è introdotta in una serie oppo-

sta di pozzetti allineati. Il titolo del materiale in esame può essere determinato alla diluizione più alta che presenta una linea di precipitazione.

Sono note diverse modificazioni dei metodi di immunoelettroforesi crociata e di elettroimmunodosaggio.

Altre tecniche combinano la separazione degli antigeni per dimensioni molecolari e per proprietà sierologiche.

Visualizzazione e caratterizzazione delle linee di immunoprecipitazione

Possono essere effettuate mediante coloranti selettivi e non selettivi, mediante fluorescenza, marcatura con enzimi o isotopi o mediante altre tecniche appropriate. I metodi di colorazione selettiva sono generalmente eseguiti per la caratterizzazione di sostanze non proteiche nei precipitati.

Nei gel traslucidi come l'agar o l'agarosio, la linea di precipitazione è nettamente visibile nel gel purché la concentrazione di ciascun reattivo sia appropriata.

CONVALIDA DEL METODO

Criteri di convalida

Un metodo immunochimico quantitativo è valido solo se:

- 1) l'anticorpo o l'antigene non discrimina in modo significativo tra la sostanza in esame e lo standard. Per un reattivo marcato, il reattivo corrispondente non discrimina significativamente tra il composto marcato e non marcato;
- 2) il metodo non è influenzato dall'effetto matrice, cioè da qualsiasi componente del campione in esame o dai suoi eccipienti che possono differire tra i campioni. Questi componenti possono essere rappresentati da alte concentrazioni di altre proteine, sali, conservanti o contaminanti con attività proteolitica;
- 3) il limite di quantificazione è inferiore ai criteri di accettazione indicati nella singola monografia;
- 4) la precisione del dosaggio è tale che la varianza dei risultati risponde ai requisiti indicati nella singola monografia;
- 5) l'ordine nel quale il dosaggio è effettuato non porta ad errori sistematici.

Metodi di convalida

Allo scopo di verificare questi criteri, il procedimento di convalida comprende i seguenti elementi:

- 1) il dosaggio si effettua almeno in triplicato;
- 2) il dosaggio comprende almeno tre diluizioni differenti della preparazione standard e tre diluizioni delle preparazioni in esame che si presume abbiano un'attività simile a quelle della preparazione standard;

- 3) l'ordine di dosaggio è casuale;
- 4) se il campione in esame è sotto forma di siero o formulato con altri componenti, lo standard è preparato allo stesso modo;
- 5) il saggio comprende la misurazione del legame non specifico del reattivo marcato;
- 6) per il dosaggio immunologico per competizione:
 - (a) si determina il legame massimo (competizione zero);
 - (b) le diluizioni coprono l'intero intervallo di risposta a partire dai valori più vicini al legame non specifico fino al legame massimo, preferibilmente per entrambe le preparazioni standard ed in esame.

CALCOLO STATISTICO

Per analizzare i risultati, le curve di risposta per la preparazione in esame e la preparazione standard possono essere stimate mediante i metodi descritti nel capitolo 5.3. *Analisi statistica dei risultati dei dosaggi e saggi biologici.*

Un non parallelismo significativo indica che l'anticorpo o l'antigene discrimina tra la preparazione in esame e la preparazione standard ed i risultati non sono validi. Nei dosaggi immunologici per competizione, i valori per un legame non specifico e di competizione massima a concentrazione elevata della preparazione in esame o della preparazione standard non devono essere significativamente diversi. Le differenze possono indicare effetti dovuti alla matrice, alla inibizione del legame o alla degradazione del tracciante.

2.7.2. DOSAGGIO MICROBIOLOGICO DEGLI ANTIBIOTICI

L'attività biologica di un antibiotico è valutata confrontando l'inibizione della crescita di microrganismi sensibili prodotta rispettivamente da concentrazioni note dell'antibiotico in esame e da una sostanza di riferimento.

Le sostanze di riferimento usate nei dosaggi sono sostanze la cui attività è stata determinata con precisione con riferimento al corrispondente standard internazionale o alla preparazione internazionale di riferimento.

Il dosaggio deve essere programmato in modo che esso permetta l'esame della validità del modello matematico sul quale si basa l'equazione dell'attività biologica. Se si sceglie un modello a linee parallele, le due linee logaritmiche dose-risposta (o risposta trasformata) della preparazione da esaminare e della preparazione di riferimento devono essere parallele; esse devono essere lineari nell'intervallo di dosi usate per il calcolo.

Queste condizioni devono essere verificate mediante saggi di validità per una data probabilità, generalmente $P = 0,05$. Si possono usare altri modelli matematici come il modello a rapporto di pendenza, purché questa prova di validità sia dimostrata.

Salvo indicazione diversa nella monografia, i limiti fiduciali ($P = 0,95$) del dosaggio dell'attività biologica non sono inferiori al 95 per cento e non sono superiori al 105 per cento dell'attività biologica misurata.

Effettuare il dosaggio con il metodo A o con il metodo B.

A. METODO PER DIFFUSIONE

Liquefare un terreno di coltura appropriato alle condizioni del dosaggio ed inocularlo ad una temperatura appropriata, per esempio 48-50 °C per le forme vegetative, con una quantità nota di una sospensione di microrganismi sensibili all'antibiotico da esaminare, in modo che, con le concentrazioni di antibiotico usate per il dosaggio, si formino zone di inibizione di diametro appropriato e nettamente definite. Porre immediatamente in piastre di Petri o in piastre rettangolari ampie una quantità del terreno di coltura inoculato in modo da formare uno strato uniforme dello spessore di 2-5 mm. Alternativamente, il terreno di coltura può essere composto da due strati di cui viene inoculato solo quello superiore.

Conservare le piastre in modo che non si verifichi una crescita apprezzabile o la morte dei microrganismi prima che le piastre vengano usate ed in modo che la superficie del terreno di coltura sia asciutta al momento dell'uso.

Preparare delle soluzioni della sostanza di riferimento e dell'antibiotico da esaminare a concentrazione nota e presumibilmente della stessa attività usando il solvente e la soluzione tampone indicati nella Tabella 2.7.2.-1. Applicare le soluzioni sulla superficie del terreno di coltura, per es., in cilindri di porcellana sterili, di acciaio inossidabile o di un altro materiale appropriato o in pozzetti preparati nell'agar. Si deve aggiungere lo stesso volume di soluzione a ciascun cilindro o pozzetto. Alternativamente usare filtri sterili di carta assorbente di qualità appropriata; impregnare i dischi con le soluzioni della sostanza di riferimento o con le soluzioni dell'antibiotico da esaminare e disporli sulla superficie dell'agar.

Allo scopo di verificare la validità del dosaggio, usare almeno tre dosi della sostanza di riferimento e tre dosi dell'antibiotico da esaminare che hanno la stessa attività presunta delle dosi della sostanza di riferimento. È preferibile usare una serie di dosi in progressione geometrica. Nei dosaggi di routine quando è stata dimostrata la linearità del sistema su un numero appropriato

di esperimenti usando un dosaggio a tre punti, può essere sufficiente un dosaggio a due punti in accordo con l'Autorità competente. Tuttavia in tutti i casi di disputa deve essere applicato il dosaggio a tre punti descritto precedentemente.

Disporre le soluzioni in ciascuna piastra di Petri o in ciascuna piastra rettangolare secondo un piano statisticamente appropriato. Nelle piastre di Petri piccole, che non possono contenere più di sei soluzioni, disporre alternativamente le soluzioni dell'antibiotico da esaminare e le soluzioni della sostanza di riferimento, in modo da evitare l'interazione delle soluzioni più concentrate.

Incubare ad una temperatura appropriata per circa 18 h. Un periodo di diffusione prima dell'incubazione, generalmente 1-4 h a t.a. o a circa 4 °C, se appropriato, può essere usato per minimizzare gli effetti della variazione nel tempo tra l'applicazione delle soluzioni e per migliorare la pendenza di regressione.

Misurare i diametri con una precisione almeno di 0,1 mm o le aree delle zone di inibizione circolare con altrettanta precisione e calcolare l'attività biologica usando i metodi statistici appropriati.

Usare in ciascun dosaggio un numero di ripetizioni per dose sufficiente ad assicurare la precisione richiesta. Il dosaggio può essere ripetuto ed i risultati combinati statisticamente per ottenere la precisione richiesta e per accertare se l'attività biologica dell'antibiotico da esaminare non è inferiore al minimo richiesto.

B. METODO TURBIDIMETRICO

Inoculare un terreno di coltura appropriato con una sospensione del microrganismo scelto che ha una sensibilità nei confronti dell'antibiotico da esaminare tale da provocare, nelle condizioni del saggio, una inibizione sufficientemente grande della crescita microbica. Usare una quantità nota della sospensione scelta in modo da ottenere un'opacità rapidamente misurabile dopo un periodo di incubazione di circa 4 h.

Usare il terreno di coltura inoculato immediatamente dopo la sua preparazione.

Usare il solvente e la soluzione tampone indicati nella Tabella 2.7.2.-2 per preparare le soluzioni della sostanza di riferimento e dell'antibiotico da esaminare aventi una concentrazione nota presumibilmente di uguale attività.

Allo scopo di poter valutare la validità del dosaggio, usare almeno tre dosi della sostanza di riferimento e tre dosi dell'antibiotico da esaminare che abbiano la stessa attività presunta delle dosi della sostanza di riferimento. È preferibile usare una serie di dosi in progressione geometrica. Allo scopo di ottenere la linearità

richiesta può essere necessario selezionare tre concentrazioni consecutive tra un gran numero di concentrazioni, impiegando dosi corrispondenti della soluzione di riferimento e della soluzione dell'antibiotico in esame.

Distribuire un volume uguale di ciascuna soluzione in provette uguali ed aggiungere a ciascuna provetta un volume uguale del terreno di coltura inoculato (per es. 1 ml della soluzione e 9 ml del terreno di coltura). Per il dosaggio della tirotricina aggiungere 0,1 ml di soluzione a 9,9 ml di terreno inoculato.

Preparare contemporaneamente due provette di controllo senza antibiotico entrambe contenenti il terreno di coltura inoculato e ad una delle quali sono stati aggiunti immediatamente 0,5 ml di *formaldeide R*. Queste provette sono usate per regolare gli strumenti ottici usati per misurare la crescita.

Porre tutte le provette, distribuite a caso o secondo un quadrato Latino o una disposizione a blocco casuale, in un b.m. o in un altro apparecchio appropriato che permetta di portare rapidamente tutte le provette alla temperatura di incubazione appropriata e mantenerle a questa temperatura per 3-4 h, prendendo delle precauzioni per assicurare l'uniformità della temperatura e tempi di incubazione identici.

Dopo l'incubazione arrestare la crescita dei microrganismi aggiungendo 0,5 ml di *formaldeide R* a ciascuna provetta o mediante riscaldamento e misurare l'opacità a tre cifre significative usando apparecchi ottici appropriati. Alternativamente usare un metodo che permetta di misurare l'opacità di ciascuna provetta esattamente dopo lo stesso periodo di incubazione.

Calcolare l'attività biologica usando i metodi statistici appropriati.

La linearità della relazione dose-risposta, trasformata o no, è spesso ottenuta solo per un intervallo molto limitato. È questo intervallo che deve essere usato per calcolare l'attività e deve comprendere almeno tre dosi consecutive allo scopo di permettere di verificare la linearità. Nei dosaggi di routine dove la linearità del sistema è stata dimostrata su un numero adeguato di esperimenti usando un dosaggio a tre punti, può essere sufficiente un dosaggio a due punti in accordo con l'Autorità competente. Tuttavia in tutti i casi di disputa deve essere applicato un dosaggio a tre punti.

Usare in ciascun dosaggio un numero di ripetizioni per dose sufficiente ad assicurare la precisione richiesta. Il dosaggio può essere ripetuto ed i risultati combinati statisticamente per ottenere la precisione richiesta e per accertare che l'attività biologica dell'antibiotico da esaminare non sia inferiore al minimo richiesto.

Tabella 2.7.2.-1. - Dosaggio per diffusione

Antibiotico	Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)	Microorganismo	Terreno di coltura e pH finale ($\pm 0,1$ unità di pH)	Temperatura di incubazione
Amfotericina B	<i>Amfotericina B</i> SCR	<i>Dimetil solfossido R</i>	pH 10,5 (0,2 M)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763 IP 1432-83	F - pH 6,1	35-37 °C
Bacitracina zinco	<i>Bacitracina zinco</i> SCR	<i>Acido cloridrico 0,01 M</i>	pH 7,0 (0,05 M)	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 7743 CIP 53.160 ATCC 10240	A - pH 7,0	35-39 °C
Bleomicina solfato	<i>Bleomicina solfato</i> SCR	<i>Acqua R</i>	pH 6,8 (0,1 M)	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 607	G- pH 7,0	35-37 °C
Colistimetato sodico	<i>Colistimetato sodico</i> SCR	<i>Acqua R</i>	pH 6,0 (0,05 M)	<i>Bordetella bronchiseptica</i> NCTC 8344 CIP 53.157 ATCC 4617 <i>Escherichia coli</i> NCIB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536	B - pH 7,3	35-39 °C
Framicetina solfato	<i>Framicetina solfato</i> SCR	<i>Acqua R</i>	pH 8,0 (0,05 M)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 <i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18	E - pH 7,9 E - pH 7,9	30-37 °C 30-37 °C
Gentamicina solfato	<i>Gentamicina solfato</i> SCR	<i>Acqua R</i>	pH 8,0 (0,05 M)	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 <i>Staphylococcus epidermidis</i> NCIB 8853 CIP 68.21 ATCC 12228	A - pH 7,9 A - pH 7,9	35-39 °C 35-39 °C
Josamicina	<i>Josamicina</i> SCR	<i>Metanolo R</i> (vedi la monografia)	pH 5,6	<i>Bacillus subtilis</i> CIP 52.62 ATCC 6633 NCTC 10400	A - pH 6,6	35-37 °C

Dosaggio microbiologico degli antibiotici

Segue: Tabella 2.7.2.-1. - Dosaggio per diffusione

Antibiotico	Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)	Microrganismo	Terreno di coltura e pH finale ($\pm 0,1$ unità di pH)	Temperatura di incubazione
Josamicina propionato	<i>Josamicina propionato SCR</i>	<i>Metanolo R</i> (vedi la monografia)	pH 5,6	<i>Bacillus subtilis</i> CIP 52.62 ATCC 6633 NCTC 10400	A - pH 6,6	35-37 °C
Kanamicina monosolfato Kanamicina solfato acido	<i>Kanamicina monosolfato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0 (0,05 M)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	A - pH 7,9 A - pH 7,9	30-37 °C 35-39 °C
Neomicina solfato	<i>Neomicina solfato per dosaggio microbiologico SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0 (0,05 M)	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	E - pH 7,9 E - pH 7,9	30-37 °C 30-37 °C
Netilmicina solfato	<i>Netilmicina solfato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0 \pm 0,1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P CIP 53.156	A - pH 7,9	32-35 °C
Nistatina	<i>Nistatina SCR</i>	<i>Dimetilformammide R</i>	pH 6,0 (0,05 M) contenente il 5 per cento V/V di dimetilformammide R	<i>Candida tropicalis</i> CIP 1433-83 NCYC 1393 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCYC 87 CIP 1432-83 ATCC 9763	F- pH 6,0 F- pH 6,0	30-37 °C 30-32 °C
Rifamicina sodica	<i>Rifamicina sodica SCR</i>	<i>Metanolo R</i>	pH 7,0 (0,05 M)	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 8340 CIP 53.45 ATCC 9341	A - pH 6,6	35-39 °C
Spiramicina	<i>Spiramicina SCR</i>	<i>Metanolo R</i>	pH 8,0 (0,05 M)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	A - pH 7,9	30-32 °C
Streptomicina solfato	<i>Streptomicina solfato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0 (0,05 M)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236 CIP 1,83 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	A - pH 7,9 A - pH 7,9	30-37 °C 30-37 °C
Teicoplanina	<i>Teicoplanina SCR</i>	pH 6,0 (0,05 M)	pH 6,0 (0,05 M)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 5262 ATCC 6633	H - pH 7,8 - 8,0	35-37 °C
Tilosina per uso veterinario Tilosina tartrato per uso veterinario	<i>Tilosina SCR</i>	Soluzione al 2,5 per cento V/V di metanolo R in tampone soluzione fosfato 0,1 M a pH 7,0 R	una miscela di 40 volumi di metanolo R e 60 volumi di tampone soluzione fosfato 0,1 M a pH 8,0 R	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 8340 CIP 53.45 ATCC 9341	A - pH 8,0	32-35 °C
Vancomicina cloridrato	<i>Vancomicina cloridrato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236 CIP 52.62 ATCC 6633	A - pH 8,0	37-39 °C

Tabella 2.7.2.-2. - Dosaggio turbidimetrico

Antibiotico	Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)	Microorganismo	Terreno di coltura e pH finale ($\pm 0,1$ unità di pH)	Temperatura di incubazione
Colistimetato sodico	<i>Colistimetato sodico SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 7,0	<i>Escherichia coli</i> NCIB 8666 CIP 2.83 ATCC 9637	C - pH 7,0	35-37 °C
Framicetina solfato	<i>Framicetina solfato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	C - pH 7,0	35-37 °C
Gentamicina solfato	<i>Gentamicina solfato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 7,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	C - pH 7,0	35-37 °C
Gramicidina	<i>Gramicidina SCR</i>	<i>Metanolo R</i>	pH 7,0 *	<i>Enterococcus hirae</i> CIP 58.55 ATCC 10541 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P	C - pH 7,0	35-37 °C
	* Può essere necessaria l'aggiunta di un detergente per evitare l'adsorbimento sul materiale durante le diluizioni, per es. 0,1 mg/ml di <i>polisorbato 80 R</i>					
Josamicina	<i>Josamicina SCR</i>	<i>Metanolo R</i> (vedi la monografia)	pH 5,6	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.156 ATCC 6538 P NCTC 7447	C - pH 8,0	35-37 °C
Josamicina propionato	<i>Josamicina propionato SCR</i>	<i>Metanolo R</i> (vedi la monografia)	pH 5,6	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.156 ATCC 6538 P NCTC 7447	C - pH 8,0	35-37 °C
Kanamicina monosolfato Kanamicina solfato acido	<i>Kanamicina monosolfato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	C - pH 7,0	35-37 °C
Neomicina solfato	<i>Neomicina solfato per dosaggio microbiologico SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	C - pH 7,0	35-37 °C
Rifamicina sodica	<i>Rifamicina sodica SCR</i>	<i>Metanolo R</i>	pH 7,0	<i>Escherichia coli</i> NCIB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536	C - pH 7,0	35-37 °C

Segue: Tabella 2.7.2.-2. - Dosaggio turbidimetrico

Antibiotico	Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)	Microrganismo	Terreno di coltura e pH finale ($\pm 0,1$ unità di pH)	Temperatura di incubazione
Spiramicina	<i>Spiramicina SCR</i>	<i>Metanolo R</i>	pH 7,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	C - pH 7,0	35-37 °C
Streptomicina solfato	<i>Streptomicina solfato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031	C - pH 7,0	35-37 °C
Tilosina per uso veterinario Tilosina tartrato per uso veterinario	<i>Tilosina SCR</i>	Soluzione al 2,5 per cento V/V di <i>metanolo R</i> in tampone soluzione fosfato 0,1 M a pH 7,0 R	pH 7,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 6571 ATCC 9144 CIP 53.154	C - pH 7,0	37 °C
Tirotricina	<i>Gramicidina SCR</i>	<i>Alcool R</i>	<i>Alcool R</i>	<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	C - pH 7,0	37 °C
Vancomicina cloridrato	<i>Vancomicina cloridrato SCR</i>	<i>Acqua R</i>	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.156 TCC 6538 P	C - pH 7,0	37-39 °C

La sezione seguente è riportata come informazione.

MICROORGANISMI RACCOMANDATI

Il testo seguente riporta i microrganismi raccomandati e le condizioni d'uso. Si possono usare altri microrganismi purché essi dimostrino di essere sensibili all'antibiotico in esame e siano usati in terreni di coltura appropriati ed in condizioni idonee di temperatura e di pH. La concentrazione delle soluzioni da usare dovrebbe essere scelta in modo da assicurare una relazione lineare tra il logaritmo della dose e la risposta nelle condizioni del saggio.

Preparazione degli inoculi. *Bacillus cereus* var. *mycoides*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus pumilus*. Preparare, come descritto di seguito, le sospensioni delle spore del microrganismo da usare come inoculo.

Coltivare i microrganismi a 35-37 °C per 7 giorni sulla superficie di un terreno di coltura appropriato al quale sono stati aggiunti 0,001 g/l di *manganese solfato R*. Eliminare, lavando con *acqua R* sterile, la coltura costituita principalmente da spore. Scaldare la sospensione a 70 °C per 30 min e diluire in modo da ottenere una concentrazione appropriata di spore, generalmente 10×10^6 - 100×10^6 per millilitro. Le sospensioni di spore possono essere conservate per lunghi periodi di tempo ad una temperatura non superiore a 4 °C.

Alternativamente le sospensioni di spore possono essere preparate mediante coltivazione dei microrganismi nel terreno di coltura C a 26 °C per 4-6 giorni.

Aggiungere, asetticamente, una quantità sufficiente di *manganese solfato R* in modo da ottenere una concentrazione di 0,001 g/l ed incubare per altre 48 h. Esaminare al microscopio la sospensione per assicurare che vi sia una adeguata formazione delle spore (circa 80 per cento) e centrifugare. Sospendere di nuovo il sedimento in *acqua R* sterile in modo da ottenere una concentrazione di 10×10^6 - 100×10^6 spore per millilitro, quindi scaldare a 70 °C per 30 min. Conservare la sospensione ad una temperatura non superiore a 4 °C.

Bordetella bronchiseptica. Coltivare il microrganismo in esame nel terreno di coltura B a 35-37 °C per 16-18 h. Eliminare, lavando con *acqua R* sterile, la coltura batterica e diluire fino ad ottenere un'opacità appropriata.

Staphylococcus aureus; *Klebsiella pneumoniae*; *Escherichia coli*; *Micrococcus luteus*; *Staphylococcus epidermidis*. Preparare come descritto precedentemente per la *B. bronchiseptica* ma usando il terreno di coltura A ed aggiustare l'opacità ad un valore che ha dimostrato di produrre una relazione dose-risposta soddisfacente nel dosaggio turbidimetrico o di produrre zone di inibizione nettamente definite e di diametro conveniente nel dosaggio per diffusione, a seconda del caso.

Saccharomyces cerevisiae; *Candida tropicalis*. Coltivare il microrganismo in esame nel terreno di coltura F a 30-37 °C per 24 h. Eliminare la coltura lavando con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Diluire con la stessa soluzione fino ad ottenere un'opacità appropriata.

Soluzioni tampone. Preparare le soluzioni tampone a pH compreso tra 5,8 e 8,0 mescolando 50,0 ml di *potassio fosfato monobasico 0,2 M R* con la quantità di *sodio idrossido 0,2 M* indicata nella Tabella 2.7.2.-3. Diluire con *acqua R* distillata di recente in modo da ottenere 200,0 ml.

Usare queste soluzioni tampone per tutti i dosaggi microbiologici riportati nella Tabella 2.7.2.-1 ad eccezione della bleomicina solfato e dell'amfotericina B. Per la bleomicina solfato, preparare la soluzione tampone a pH 6,8 sciogliendo 6,4 g di *potassio fosfato monobasico R* e 18,9 g di *sodio fosfato dibasico R* in *acqua R* e diluendo a 1000 ml con *acqua R*.

Tabella 2.7.2.-3

pH	Sodio idrossido 0,2 M (millilitri)
5,8	3,72
6,0	5,70
6,2	8,60
6,4	12,60
6,6	17,80
6,8	23,65
7,0	29,63
7,2	35,00
7,4	39,50
7,6	42,80
7,8	45,20
8,0	46,80

Per l'amfotericina B, preparare la soluzione tampone fosfato 0,2 M a pH 10,5 nel modo seguente: disciogliere 35 g di *potassio fosfato dibasico R* in 900 ml di *acqua R*, aggiungere 20 ml di *sodio idrossido 1M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Terreni di coltura. Si possono usare i terreni di coltura seguenti o terreni di coltura equivalenti.

Terreno A

Peptone	6 g
Idrolizzato pancreatico di caseina	4 g
Estratto di manzo	1,5 g
Estratto di lievito	3 g
Glucosio monoidrato	1 g
Agar	15 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

Terreno B

Idrolizzato pancreatico di caseina	17 g
Idrolizzato papaico di semi di soia	3 g
Sodio cloruro	5 g
Potassio fosfato dibasico	2,5 g
Glucosio monoidrato	2,5 g
Agar	15 g
Polisorbato 80	10 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

Aggiungere il polisorbato 80 alla soluzione calda degli altri ingredienti dopo l'ebollizione e immediatamente prima di portare a volume.

Terreno C

Peptone	6 g
Estratto di manzo	1,5 g
Estratto di lievito	3 g
Sodio cloruro	3,5 g
Glucosio monoidrato	1 g
Potassio fosfato dibasico	3,68 g
Potassio fosfato monobasico	1,32 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

Terreno D

Estratto di cuore	1,5 g
Estratto di lievito	1,5 g
Peptone di caseina	5 g
Glucosio monoidrato	1 g
Sodio cloruro	3,5 g
Potassio fosfato dibasico	3,68 g
Potassio fosfato monobasico	1,32 g
Potassio nitrato	2 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

Terreno E

Peptone	5 g
Estratto di carne	3 g
Sodio fosfato dibasico. 12 H ₂ O	26,9 g
Agar	10 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

Aggiungere il sodio fosfato dibasico in soluzione sterile dopo sterilizzazione del terreno di coltura.

Terreno F

Peptone	9,4 g
Estratto di lievito	4,7 g
Estratto di manzo	2,4 g
Sodio cloruro	10,0 g
Glucosio monoidrato	10,0 g
Agar	23,5 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

Terreno G

Glicerolo	10 g
Peptone	10 g
Estratto di carne	10 g
Sodio cloruro	3 g
Agar	15 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

pH 7,0 ± 0,1 dopo la sterilizzazione.

Terreno H

Peptone	5,0 g
Agar	15,0 g
Estratto di manzo polvere	3,0 g
Acqua fino ad ottenere	1000 ml

pH 7,8 - 8,0 corretto con *sodio idrossido 0,1 M*.

2.7.4. DOSAGGIO DEL FATTORE VIII DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE UMANO

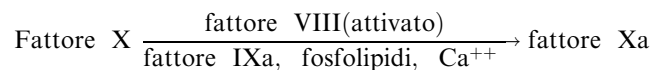
Il fattore VIII di coagulazione del sangue è dosato misurando la sua attività biologica come cofattore nell'attivazione del fattore X per mezzo del fattore IX attivato (fattore IXa), in presenza di ioni calcio e di fosfolipidi. L'attività biologica di una preparazione di fattore VIII si valuta confrontando la quantità necessaria per ottenere una determinata velocità di formazione del fattore Xa in una miscela in esame contenente le sostanze che intervengono nell'attivazione del fattore e la quantità dello Standard Internazionale o di una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali, necessaria per produrre la stessa velocità di formazione del fattore Xa.

L'Unità Internazionale è l'attività del fattore VIII di una determinata quantità dello Standard Internazionale che è costituito da un concentrato liofilizzato di fattore VIII di coagulazione del sangue umano. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

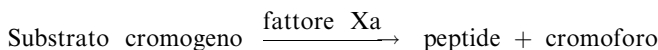
Il *fattore VIII di coagulazione del sangue umano PBR* è titolato in Unità Internazionali in rapporto allo Standard Internazionale.

Il metodo del dosaggio cromogeno consiste di due fasi successive: l'attivazione del fattore X, dipendente dal fattore VIII, in un reattivo di fattori di coagulazione costituito da componenti purificati, e la scissione enzimatica di un substrato cromogeno per mezzo del fattore Xa, con liberazione di un cromoforo che può essere quantificato per via spettrofotometrica. In condizioni appropriate di dosaggio, esiste una relazione lineare tra la velocità di formazione del fattore Xa e la concentrazione del fattore VIII. Il dosaggio viene riassunto mediante lo schema seguente:

Fase 1



Fase 2



Le due fasi richiedono reattivi che si possono ottenere in commercio da diversi fornitori. Anche se la composizione dei singoli reattivi può subire alcune variazioni, le loro caratteristiche essenziali sono descritte nelle specifiche che seguono. Variazioni a queste specifiche possono essere consentite a condizione che sia stato verificato che, utilizzando lo Standard Internazionale per il

concentrato del fattore VIII della coagulazione del sangue umano, i risultati ottenuti non differiscano significativamente.

È importante dimostrare mediante convalida l'idoneità del kit utilizzato, in particolare verificando la cinetica di generazione del fattore Xa per determinare il tempo corrispondente al 50 per cento della concentrazione massima del fattore Xa generato.

REATTIVI

Il reattivo di fattori della coagulazione è costituito da proteine purificate di origine umana o bovina. Queste comprendono il fattore X, il fattore IXa e un attivatore del fattore VIII, generalmente la trombina. Queste proteine sono parzialmente purificate, preferibilmente almeno al 50 per cento e non devono contenere impurezze che interferiscono con l'attivazione del fattore VIII o del fattore X. Queste proteine sono parzialmente purificate, preferibilmente per almeno il 50 per cento, e non contengono impurezze che interferiscono con l'attivazione del fattore VIII o del fattore X. La trombina può essere presente sotto forma del suo precursore, la protrombina, a condizioni che la sua attivazione nel reattivo sia sufficientemente rapida da permettere l'attivazione completa e quasi istantanea del fattore VIII al momento del dosaggio. I fosfolipidi possono essere ottenuti da fonti naturali o possono essere preparati sinteticamente e devono essere costituiti per una parte considerevole di fosfatidilserina. I componenti del reattivo completo sono generalmente divisi in almeno due reattivi separati, nessuno dei quali è in grado di indurre da solo la formazione del fattore Xa. Uno dei reattivi contiene ioni calcio. Dopo la ricostituzione, questi due reattivi possono essere combinati tra loro a condizione che non si formino quantità significative di fattore Xa in assenza del fattore VIII. Nella miscela finale di incubazione il fattore VIII deve essere il solo componente limitante la velocità di formazione del fattore Xa.

La seconda fase della reazione consiste nella quantificazione del fattore Xa formato per mezzo di un substrato cromogeno che è specifico per il fattore Xa. Generalmente esso è costituito da un peptide corto derivatizzato con tre-cinque amminoacidi, legato ad un gruppo cromoforo. La scissione di questo gruppo dal substrato peptidico comporta uno spostamento delle sue proprietà cromofore verso una lunghezza d'onda che permette la sua quantificazione per via spettrofotometrica. Il substrato può inoltre contenere appropriati inibitori che bloccano l'ulteriore formazione di fattore Xa, per es. agenti chelanti, e che sopprimono l'attività trombinica.

PROCEDURA DI DOSAGGIO

Ricostituire l'intero contenuto di una fiala della preparazione di riferimento e quello della preparazione da esaminare mediante aggiunta di appropriate quantità di *acqua R*; usare immediatamente. Aggiungere alle preparazioni ricostituite una quantità sufficiente di prediluyente in modo da ottenere soluzioni contenenti tra 0,5 Unità Internazionali e 2,0 Unità Internazionali per millilitro.

Il prediluyente è costituito dal plasma di un paziente affetto da emofilia A grave o da un reattivo preparato artificialmente che dia risultati che non differiscono significativamente da quelli ottenuti utilizzando plasma emofilico. I materiali prediluiti devono essere stabili per tutto il tempo richiesto per il dosaggio.

Preparare altre diluizioni della preparazione in esame e della preparazione di riferimento utilizzando un'appropriata soluzione tamponata non chelante contenente l'1 per cento di albumina umana o bovina e per esempio, tris(idrossimetil)amminometano o imidazolo. Preparare per ciascun materiale, almeno tre diluizioni separate ed indipendenti preferibilmente in doppio. Preparare le diluizioni in modo che la concentrazione finale del fattore VIII nella miscela di reazione sia inferiore a 0,03 U.I. per millilitro e preferibilmente inferiore a 0,01 U.I. per millilitro durante la fase di generazione del fattore Xa.

Preparare una soluzione di controllo che include tutti i componenti eccetto il fattore VIII.

Preparare tutte le diluizioni in provette di plastica e utilizzarle immediatamente.

Fase 1. Mescolare le diluizioni preriscaldate della preparazione di riferimento del fattore VIII e della preparazione da esaminare con un volume appropriato del reattivo di fattori della coagulazione preriscaldato o una combinazione dei suoi costituenti separati ed incubare la miscela a 37 °C in provette di plastica o in pozzetti in micropiastra. Lasciare procedere la reazione di attivazione del fattore X per un tempo appropriato, preferibilmente arrestando la reazione (fase 2) prima che la concentrazione del fattore Xa abbia raggiunto approssimativamente il 50 per cento del suo massimo livello (plateau). Tempi di attivazione appropriati sono generalmente compresi tra 2 min e 5 min.

Fase 2. Arrestare la reazione di attivazione mediante aggiunta del reattivo preriscaldato contenente il substrato cromogeno. Quantificare la velocità di scissione del substrato, che deve essere lineare con la concentrazione del fattore Xa formato, misurando la variazione di assorbanza ad una lunghezza d'onda appropriata usando uno spettrofotometro; l'assorbanza può essere misurata sia continuamente, cosa che permette di cal-

colare la velocità iniziale di scissione del substrato, sia interrompendo la reazione di idrolisi dopo un appropriato intervallo, per abbassamento del pH mediante aggiunta di un reattivo adatto, come una soluzione di acido acetico al 50 per cento V/V o una soluzione tampone di citrato a pH 3 (1M). Aggiustare il tempo di idrolisi in modo da ottenere uno sviluppo lineare nel tempo del cromoforo. Tempi di idrolisi appropriati sono generalmente compresi tra 3 min e 15 min, ma sono ammesse variazioni se permettono di ottenere una migliore linearità nella relazione dose-risposta.

Calcolare l'attività biologica della preparazione in esame mediante metodi statistici usuali (per esempio 5.3. *Analisi statistica dei risultati dei dosaggi e saggi biologici*).

2.7.5. DOSAGGIO DELL'EPARINA

L'attività anticoagulante dell'eparina è determinata *in vitro* confrontando la sua capacità, in determinate condizioni, di ritardare la coagulazione del plasma di montone citrato e ricalcificato, con la stessa capacità di una preparazione di riferimento di eparina titolata in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale è l'attività contenuta in una quantità definita dello Standard Internazionale, che è costituito da una quantità di eparina sodica liofilizzata ottenuta dalla mucosa intestinale di maiale. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

L'*eparina sodica PBR* è titolata in Unità Internazionali per confronto con lo Standard Internazionale mediante i dosaggi riportati di seguito.

Effettuare il dosaggio utilizzando uno dei metodi seguenti per determinare l'inizio della coagulazione ed usando provette ed altri strumenti appropriati al metodo scelto:

- esame visivo diretto effettuato usando preferibilmente un'illuminazione indiretta ed osservando su fondo nero ed opaco;
- registrazione spettrofotometrica del cambiamento della densità ottica ad una lunghezza d'onda approssimativamente di 600 nm;
- rilevazione visiva del cambiamento di fluidità inclinando manualmente le provette;
- registrazione meccanica del cambiamento di fluidità per mescolamento, facendo attenzione a causare minimi mutamenti della soluzione durante la fase iniziale di coagulazione.

PROCEDURA DI DOSAGGIO

I volumi nel testo sono indicati come esempio e possono essere adattati allo strumento purché siano rispettati i rapporti tra i differenti volumi.

Diluire l'eparina sodica PBR con una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro R in modo che essa contenga un numero, noto e preciso, di Unità Internazionali per millilitro e preparare una soluzione analoga della preparazione da esaminare che si presume abbia la stessa attività. Preparare da ciascuna soluzione, usando una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro R, una serie di diluizioni in progressione geometrica in modo che il tempo di coagulazione ottenuto con la concentrazione più bassa non sia inferiore a 1,5 volte il tempo di ricalcificazione del bianco e che quello ottenuto con la concentrazione più alta sia tale da dare una curva log dose-risposta soddisfacente, come determinato in un saggio preliminare.

Introdurre dodici provette in un bagno di acqua ghiacciata ed etichettarle in doppio: T₁, T₂ e T₃ per le diluizioni della preparazione da esaminare e S₁, S₂ e S₃ per le diluizioni della preparazione di riferimento. Aggiungere a ciascuna provetta 1,0 ml di plasma substrato RI scongelato ed 1,0 ml dell'appropriata diluizione della preparazione da esaminare o della preparazione di riferimento. Dopo ogni aggiunta mescolare evitando di formare delle bolle. Prendendo le provette nell'ordine S₁, S₂, S₃, T₁, T₂ e T₃, trasferire ciascuna di esse in un b.m. a 37 °C, lasciare equilibrare a 37 °C per circa 15 min ed aggiungere a ciascuna provetta 1 ml di un reattivo APTT (Activated Partial Thromboplastin time, Tempo di tromboplastina parzialmente attivata) appropriato contenente fosfolipidi e un attivatore di contatto, ad una diluizione tale da ottenere un appropriato tempo di ricalcificazione in bianco non superiore a 60 s. Esattamente dopo 2 min aggiungere 1 ml di una soluzione (3,7 g/l) di calcio cloruro R precedentemente scaldata a 37 °C e registrare come tempo di coagulazione l'intervallo, in secondi, tra quest'ultima aggiunta e l'inizio della coagulazione mediante la tecnica prescelta. Determinare il tempo di ricalcificazione del bianco all'inizio ed alla fine della procedura in una maniera simile usando 1 ml di una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro R al posto di una delle diluizioni di eparina; i due valori ottenuti per il bianco non devono differire in maniera significativa. Trasformare i tempi di coagulazione in logaritmi usando il valore medio per le provette in doppio. Ripetere la procedura usando diluizioni preparate di recente ed effettuando l'incubazione nell'ordine T₁, T₂, T₃, S₁, S₂ ed S₃.

Calcolare i risultati mediante i metodi statistici usuali (5.3).

Effettuare almeno tre dosaggi indipendenti. Per ciascun dosaggio preparare soluzioni recenti della preparazione

di riferimento e della preparazione da esaminare ed usare un'altra porzione di plasma substrato appena scongelato.

Calcolare l'attività biologica della preparazione da esaminare combinando i risultati di questi dosaggi mediante i metodi statistici usuali (5.3). Quando la varianza dovuta alle differenze tra i dosaggi è significativa a $P = 0,01$, può essere ottenuta una valutazione combinata dell'attività biologica calcolando la media non ponderata delle attività biologiche misurate.

2.7.6. DOSAGGIO DEL VACCINO DIFTERICO ADSORBITO

L'attività del vaccino difterico adsorbito si determina mediante la somministrazione del vaccino alle cavie seguita o da una prova mediante la tossina difterica (metodo A o B) oppure mediante la determinazione del titolo di anticorpi diretti contro la tossina o l'anatossina difterica nel siero di cavia (metodo C). In entrambi i casi l'attività del vaccino è calcolata per confronto con quella di una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali, necessaria per ottenere la stessa protezione.

L'Unità Internazionale è l'attività biologica contenuta in una quantità definita dello Standard Internazionale, che è costituito da una quantità di anatossina difterica adsorbita su idrossido di alluminio. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS).

Il vaccino difterico adsorbito PBR è appropriato per l'uso come preparazione di riferimento.

Il metodo scelto per il dosaggio dell'attività del vaccino difterico adsorbito dipende dallo scopo del dosaggio. I metodi A e B sono utilizzati:

1. durante lo sviluppo di un vaccino per il dosaggio dei lotti prodotti allo scopo di convalidare la produzione;
2. ogni volta che è necessaria una nuova convalida in seguito ad un cambiamento significativo del processo di fabbricazione.

I metodi A e B possono anche essere utilizzati per il dosaggio di routine dei lotti di vaccino, ma nell'interesse del benessere animale, utilizzare il metodo C ogni volta che è possibile.

Ad eccezione dei casi precedentemente specificati ai punti 1 e 2, il metodo C può essere utilizzato dopo verifica dell'appropriatezza del metodo per il prodotto. A questo scopo un numero appropriato di lotti (generalmente 3) è titolato con il metodo C e con i metodi A e B. Se vaccini differenti (monovalenti o associati) sono preparati a partire da anatossine difteriche della stessa origine e che hanno livelli confrontabili (espressi

in Lf/ml) della stessa anatoxina difterica, la conformità dimostrata per il vaccino associato con il più grande numero di componenti è anche valida per i vaccini associati con un numero inferiore di componenti e per i vaccini monovalenti. Qualsiasi associazione contenente la componente pertossica a cellule intere o contenente il vaccino coniugato emofilo tipo b e l'anatoxina difterica o la proteina difterica CRM 197 come proteina vettrice nella stessa fiala deve essere sempre valutata separatamente.

Per le associazioni contenenti componenti difteriche e tetaniche, il dosaggio sierologico (metodo C) può essere effettuato con lo stesso gruppo di animali utilizzati per il dosaggio sierologico del vaccino tetanico adsorbito (2.7.8) quando le condizioni di immunizzazione comuni per le componenti difterica e tetanica (per esempio, dosi, durata) hanno dimostrato di essere valide per il vaccino combinato.

Il protocollo dei dosaggi descritto di seguito utilizza diluizioni multiple della preparazione in esame e della preparazione di riferimento. Una volta che l'analista ha acquisito un'esperienza sufficiente con questo metodo per un dato vaccino, è possibile applicare un modello semplificato come una diluizione singola della preparazione in esame e della preparazione di riferimento. Un tale modello permette all'analista di determinare se l'attività della preparazione in esame è superiore in maniera significativa al minimo richiesto, ma non fornisce informazioni sulla linearità, il parallelismo o la curva dose-risposta. Il modello semplificato permette una riduzione considerevole del numero necessario di animali e deve essere presa in considerazione da ciascun analista in accordo con le disposizioni della European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

In caso di un dosaggio a diluizione singola, la riproducibilità durante tutta la produzione e il dosaggio sono controllati mediante indicatori appropriati ed effettuando periodicamente un dosaggio a diluizione multipla completo, per esempio ogni due anni. Per i dosaggi sierologici, indicatori appropriati per controllare la riproducibilità del dosaggio sono:

- la media e la deviazione standard dei relativi titoli di antitossina o dei valori dei campioni di siero ottenuti dopo somministrazione di una determinata dose di vaccino di riferimento;
- i titoli o i valori di antitossina dei sierimmuni di controllo (campioni di siero positivo e negativo);

- il rapporto tra i titoli o i valori di antitossine di siero di controllo positivo e dei campioni di siero corrispondenti al vaccino di riferimento.

METODO A. PROVA INTRADERMICA SU CAVIA

SELEZIONE E RIPARTIZIONE DEGLI ANIMALI IN ESAME

Utilizzare nel saggio cavie albine sane provenienti da un medesimo allevamento e di dimensioni appropriate al numero di inoculazioni prescritte, con una differenza di massa corporea tra la cavia più pesante e quella più leggera non superiore a 100 g. Usare cavie dello stesso sesso o, altrimenti, i maschi e le femmine devono essere ripartiti in modo uguale fra i gruppi. Suddividere gli animali in almeno 6 gruppi uguali; usare gruppi costituiti da un numero di animali sufficiente in modo da ottenere risultati che soddisfino a requisiti di validità del dosaggio descritti di seguito. Se non è stata dimostrata la stabilità della tossina di prova da usare o se non è stata adeguatamente standardizzata, aggiungere 5 cavie non vaccinate come controlli.

SELEZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Scegliere una preparazione di tossina difterica che contiene da 67 a 133 lr/100 in 1 Lf e da 25000 a 50000 volte la dose minima di reazione per la cute delle cavie in 1 Lf. Se è stato dimostrato che la preparazione della tossina di prova è stabile non è necessario verificare l'attività in ogni dosaggio.

PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Immediatamente prima dell'uso diluire la tossina di prova con un adatto diluente in modo da ottenere una soluzione della tossina di prova che contenga circa 0,0512 Lf in 0,2 ml. Preparare da questa diluizione una serie di cinque diluizioni, 1:4, contenenti circa 0,0128, 0,0032, 0,0008, 0,0002 e 0,00005 Lf in 0,2 ml.

DILUIZIONE DELLA PREPARAZIONE IN ESAME E DELLA PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO

Preparare delle diluizioni del vaccino da esaminare e della preparazione di riferimento usando una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* tali che, in entrambi i casi, esse formino una serie in cui il rapporto tra le diluizioni non sia superiore a 2,5 e che le diluizioni intermedie, quando sono inoculate per via sottocutanea alla dose di 1,0 ml per cavia, diano un indice intradermico di circa 3 quando gli animali sono sottoposti all'infezione di prova.

Dosaggio del vaccino difterico adsorbito

IMMUNIZZAZIONE E PROVA

Attribuire una diluizione a ciascun gruppo di cavie ed iniettare per via sottocutanea 1,0 ml di ciascuna diluizione a tutti gli animali del gruppo al quale essa è destinata. Dopo 28 giorni, depilare i fianchi di ciascuna cavia ed iniettare a ciascuna cavia vaccinata, per via intradermica, 0,2 ml di ciascuna delle sei diluizioni di tossina in sei siti di inoculazione diversi scelti in modo tale da ridurre al minimo l'interferenza tra siti adiacenti.

DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' BIOLOGICA DELLA TOSSINA DI PROVA

Se necessario, iniettare agli animali di controllo non vaccinati diluizioni contenenti 80, 40, 20, 10 e 5×10^{-6} Lf della tossina di prova.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare tutti i siti di inoculazione 48 h dopo l'iniezione della tossina di prova e registrare l'incidenza dell'eritema difterico specifico. Registrare anche il numero di siti privi di tali reazioni come indice intradermico di prova. Riportare insieme gli indici intradermici di prova di tutti gli animali che hanno ricevuto la stessa diluizione di vaccino ed usare questi dati con una trasformazione opportuna, come (indice intradermico)² oppure $\arcsin((\text{indice intradermico}/6)^2)$, per ottenere una valutazione dell'attività biologica relativa per ciascuna delle preparazioni in esame mediante analisi quantitativa a linee parallele.

REQUISITI PER UN DOSAGGIO VALIDO

Il saggio è valido solo se:

- per il vaccino da esaminare e per la preparazione di riferimento l'indice intradermico medio ottenuto per la dose più bassa è inferiore a 3 e l'indice intradermico medio per la dose più alta è superiore a 3;
- se del caso, la diluizione di tossina che contiene 40×10^{-6} Lf produce un eritema almeno nell'80 per cento delle cavie di controllo e la diluizione contenente 20×10^{-6} Lf non produce reazione almeno nell'80 per cento di cavie (se non si riscontrano questi criteri deve essere selezionata un'altra tossina);
- i limiti fiduciali ($P = 0,95$) sono compresi tra il 50 per cento e il 200 per cento dell'attività biologica misurata;
- l'analisi statistica non mostra deviazioni dalla linearità o dal parallelismo.

Il saggio può essere ripetuto ma quando viene eseguito più di una volta i risultati di tutti i saggi validi devono essere combinati nella valutazione dell'attività biologica.

METODO B. PROVA LETALE SU CAVIE

SELEZIONE E RIPARTIZIONE DEGLI ANIMALI IN ESAME

Utilizzare nel saggio cavie sane provenienti da un medesimo allevamento, ciascuna di 250-350 g. Usare cavie dello stesso sesso o, altrimenti, i maschi e le femmine devono essere ripartiti in modo uguale fra i gruppi. Suddividere le cavie in almeno 6 gruppi uguali; usare gruppi costituiti da un numero di animali sufficiente per ottenere risultati che soddisfino ai requisiti di validità del dosaggio descritti di seguito. Se non è stata dimostrata la stabilità della tossina di prova da usare o se non è stata adeguatamente standardizzata, aggiungere altri 4 gruppi di 5 cavie come controlli non vaccinati.

SELEZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Scegliere una preparazione di tossina difterica che contiene almeno 100 DL₅₀ per millilitro. Se è stato dimostrato che la preparazione della tossina di prova è stabile, non è necessario verificare la dose letale in ogni dosaggio.

PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Immediatamente prima dell'uso, diluire la tossina di prova con un adatto diluente in modo da ottenere una soluzione della tossina di prova che contenga approssimativamente 100 DL₅₀ per millilitro. Se necessario, diluire un'aliquota della soluzione della tossina di prova 1:32, 1:100 e 1:320 con lo stesso diluente.

DILUIZIONE DELLA PREPARAZIONE IN ESAME E DELLA PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO

Preparare delle diluizioni del vaccino da esaminare e della preparazione di riferimento usando una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro R tali che, in entrambi i casi, esse formino una serie in cui il rapporto tra le diluizioni non sia superiore a 2,5 e che le diluizioni intermedie, quando sono inoculate per via sottocutanea alla dose di 1,0 ml per cavia, proteggano approssimativamente il 50 per cento degli animali dagli effetti letali della quantità di tossina difterica, prescritta per questo saggio, inocolata per via sottocutanea.

IMMUNIZZAZIONE E PROVA

Attribuire una diluizione a ciascun gruppo di cavie ed iniettare per via sottocutanea 1,0 ml di ciascuna diluizione a tutti gli animali del gruppo al quale essa è destinata. Dopo 28 giorni iniettare, per via sottocutanea, a ciascun animale 1,0 ml della soluzione di tossina di prova (100 DL₅₀).

DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' BIOLOGICA DELLA TOSSINA DI PROVA

Se necessario attribuire la soluzione della tossina di prova e tre sue diluizioni, ciascuna ad uno di 4 gruppi di 5 cavie ed iniettare per via sottocutanea 1,0 ml di ciascuna soluzione a ciascuna cavia del gruppo al quale la soluzione è destinata.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Contare il numero di cavie sopravvissute 4 giorni dopo l'inoculazione della tossina di prova. Calcolare l'attività biologica del vaccino da esaminare in rapporto a quella della preparazione di riferimento, sulla base della proporzione di animali sopravvissuti in ciascuno dei gruppi di cavie vaccinate, utilizzando i metodi statistici usuali (per esempio, 5.3).

REQUISITI PER UN DOSAGGIO VALIDO

Il saggio è valido solo se:

- per il vaccino da esaminare e per la preparazione di riferimento la dose protettiva al 50 per cento è compresa tra la dose più grande e quella più piccola delle preparazioni somministrate alle cavie;
- se del caso, il numero degli animali che muore nei 4 gruppi dei 5 inoculati con la soluzione della tossina di prova e con le sue diluizioni indica che la dose di prova è approssimativamente 100 DL₅₀;
- i limiti fiduciali ($P = 0,95$) sono compresi tra il 50 per cento e il 200 per cento dell'attività biologica misurata;
- l'analisi statistica non mostra deviazioni dalla linearità o dal parallelismo.

Il saggio può essere ripetuto ma quando viene eseguito più di una volta i risultati di tutti i saggi validi devono essere combinati nella valutazione dell'attività.

METODO C. DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI NELLE CAVIE**SELEZIONE E RIPARTIZIONE DEGLI ANIMALI IN ESAME**

Utilizzare nel saggio cavie sane provenienti da un medesimo allevamento, ciascuna di 250-350 g. Usare cavie dello stesso sesso o, altrimenti, ripartire i maschi

e le femmine in modo uguale fra i gruppi. Suddividere le cavie in almeno 6 gruppi uguali, usare gruppi costituiti da un numero di animali sufficiente in modo da ottenere risultati che soddisfino ai requisiti di validità del dosaggio descritto di seguito. Usare un ulteriore gruppo di cavie non vaccinate della stessa origine per fornire un siero di controllo negativo. Se è stata dimostrata la consistenza del saggio, può essere usato un siero di controllo negativo di riferimento.

PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO

Usare un'appropriata preparazione di riferimento come il *vaccino difterico adsorbito PBR* o un lotto di vaccino che ha dimostrato di essere efficace negli studi clinici o un altro lotto rappresentativo che è stato standardizzato in Unità Internazionali per confronto con il *vaccino difterico adsorbito PBR* o con lo Standard Internazionale dell'anatossina difterica adsorbita.

DILUIZIONE DELLA PREPARAZIONE IN ESAME E DELLA PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO

Preparare delle diluizioni in serie del vaccino da esaminare e della preparazione di riferimento usando una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*; una serie in ragione da 1:2,5 a 1:5 si è dimostrata appropriata. Usare almeno tre diluizioni con un intervallo, per esempio, di 0,5-16 U.I/ml per il vaccino di riferimento e entro l'intervallo, per esempio, da 1:2 a 1:125 per il vaccino da esaminare. Usare le diluizioni per l'immunizzazione preferibilmente entro 1 h dalla preparazione. Attribuire una diluizione a ciascun gruppo di cavie.

IMMUNIZZAZIONE

Iniettare per via sottocutanea a ciascuna cavia 1,0 ml della diluizione attribuita a ciascun gruppo.

PRELIEVO DI SANGUE

35-42 giorni dopo l'immunizzazione, prelevare un campione di sangue da ciascuna cavia vaccinata e da ciascuna cavia di controllo utilizzando un metodo appropriato.

PREPARAZIONE DI CAMPIONI DI SIERO

Evitare frequenti congelamenti e scongelamenti di campioni di siero. Per evitare la contaminazione microbica è preferibile effettuare le manipolazioni in una cappa a flusso laminare.

DETERMINAZIONE DEL TITOLO DI ANTICORPI

Determinare il titolo relativo di anticorpi o il titolo di ciascun campione di siero mediante un appropriato metodo immunochimico (2.7.1). I metodi riportati di

Dosaggio del vaccino difterico adsorbito

seguito (dosaggio mediante immunoassorbimento ad enzima coniugato (ELISA) e dosaggio su cellule Vero) hanno dimostrato di essere appropriati.

CALCOLO DELL'ATTIVITA'

Calcolare l'attività del vaccino da esaminare in Unità Internazionali per confronto con la preparazione di riferimento, usando i metodi statistici usuali (per esempio, 5.3).

REQUISITI PER UN DOSAGGIO VALIDO

Il saggio è valido solo se:

- i limiti fiduciali ($P = 0,95$) sono compresi tra il 50 per cento e il 200 per cento del valore atteso dell'attività;
- l'analisi statistica mostra una pendenza significativa e non mostra deviazione dalla linearità e dal parallelismo delle curve dose-risposta (il capitolo 5.3. descrive possibili alternative se si osservano deviazioni significative).

Il saggio può essere ripetuto ma quando è effettuato più di un saggio, il calcolo dell'attività deve comprendere i risultati di tutti i saggi validi.

La sezione riportata di seguito è pubblicata per informazione.

LINEA GUIDA PER IL DOSAGGIO DEL VACCINO DIFTERICO ADSORBITO

METODO C. DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI NELLE CAVIE

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI DI SIERO

Per la preparazione dei campioni di siero, sono state riscontrate appropriate le seguenti tecniche. Capovolgere le provette contenenti i campioni di sangue per 6 volte e lasciare a riposo a 37 °C per 2 h e poi a 4 °C per 2 h. Centrifugare a temperatura ambiente a 800 g per 20 min. Trasferire il siero in provette sterili e conservare a temperatura inferiore a – 20 °C. Con questa procedura si ottiene una resa almeno del 40 per cento.

DETERMINAZIONE DEL TITOLO IN ANTICORPI

I dosaggi ELISA e la titolazione sulle cellule Vero riportati di seguito sono riportati come esempio di metodi immunochimici che si sono riscontrati appropriati per la determinazione del titolo di anticorpi.

Determinazione del titolo di anticorpi nelle cavie mediante dosaggio di immunoassorbimento ad enzima coniugato (ELISA). Effettuare delle diluizioni del siero in esame e della preparazione di riferimento su piastre ELISA ricoperte con anatossina difterica. Introdurre in ciascuna piastra un siero di cavia di controllo nega-

tivo e un siero di cavia di controllo positivo per controllare l'esecuzione del dosaggio. Aggiungere anticorpi di coniglio o anticorpi di capra diretti contro le IgG di cavia coniugati alla perossidasi e poi aggiungere un substrato della perossidasi. Misurare la densità ottica e il relativo titolo in anticorpi usando i metodi statistici usuali (per esempio, 5.3).

Reattivi ed apparecchiature

- *Piastre ELISA*: 96 pozzetti, colonne 1-12, linee A-H.
- *Siero di cavia antidifterico (vaccino per uso umano)* (siero di controllo positivo) ottenuto immunizzando le cavie con il vaccino difterico adsorbito PBR.
- *Perossidasi coniugato*. Anticorpi di coniglio o di capra coniugati alla perossidasi e diretti contro l'IgG di coniglio.
- *Anatossina difterica*.
- *Tampone carbonato a pH 9,6*. Disciogliere 1,59 g di sodio carbonato anidro R e 2,93 g di sodio bicarbonato R in 1000 ml di acqua R. Ripartire in palloni da 150 ml e sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 min.
- *Soluzione salina fosfato tamponata a pH 7,4 (PBS)*. Disciogliere agitando 80,0 g di sodio cloruro R, 2,0 g di potassio fosfato monobasico R, 14,3 g di sodio fosfato dibasico diidrato R e 2,0 g di potassio cloruro R in 1000 ml di acqua R. Conservare a temperatura ambiente per prevenire la cristallizzazione. Diluire la soluzione 1:10 con acqua R prima dell'uso.
- *Acido citrico soluzione*. Disciogliere 10,51 g di acido citrico R in 1000 ml di acqua R e portare a pH 4,0 con una soluzione (400 g/l) di sodio idrossido R.
- *Tampone di lavaggio*. Utilizzare la soluzione PBS contenente 0,5 g/l di polisorbato 20 R.
- *Tampone di bloccaggio diluente*. Utilizzare la soluzione PBS contenente 0,5 g/l di polisorbato 20 R e 25 g/l di latte scremato essiccato.
- *Perossidasi substrato*. Poco prima dell'uso disciogliere 10 mg di diammonio 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-solfonato)R (ABTS) in 20 ml di una soluzione di acido citrico. Immediatamente prima dell'uso aggiungere 5 µl di idrogeno perossido soluzione concentrata R.

Metodo

La descrizione riportata di seguito è indicata come esempio ma possono essere utilizzati altri tipi di piastre. I pozzetti 1A-H sono utilizzati per il siero di controllo negativo e i pozzetti 2A-H e 12A-H sono utilizzati per

il siero di controllo positivo per controllare l'esecuzione del dosaggio. I pozzetti 3-11A-H sono utilizzati per i campioni da esaminare.

Ricoprire ciascun pozzetto delle piastre ELISA con 100 µl di soluzione di anatossina difterica (0,5 Lf/ml nella soluzione tampone carbonato a pH 9,6). Lasciare a riposo per l'intera notte a 4 °C in atmosfera umida. Per evitare gli effetti del gradiente di temperatura, non accatastare più di 4 piastre. Il giorno seguente lavare accuratamente le piastre con il tampone di lavaggio. Bloccare le piastre aggiungendo 100 µl di tampone di bloccaggio diluente in ciascun pozzetto. Incubare in atmosfera umida a 37 °C per 1 h. Lavare le lastre accuratamente con il tampone di lavaggio. Trasferire 100 µl di tampone di bloccaggio diluente in ciascun pozzetto della lastra ad eccezione di quelli della linea A. Preparare delle diluizioni appropriate dei sieri di controllo negativi e di controllo positivi (a circa 0,01 U.I./ml) e del siero da esaminare. Attribuire il siero di controllo negativo alla colonna 1, il siero di controllo positivo alle colonne 2 e 12 e i sieri da esaminare alle colonne 3-11 ed aggiungere 100 µl di ciascun siero ai due primi pozzetti della colonna alla quale è attribuito. Con l'ausilio di una micropipetta a dosaggio multiplo effettuare delle serie di diluizioni 1:2 a partire dalla fila B fino alla fila H, trasferendo 100 µl di un pozzetto nel pozzetto successivo. Eliminare 100 µl dall'ultima fila in modo che tutti i pozzetti contengano 100 µl. Incubare a 37 °C per 2 h. Lavare accuratamente con il tampone di lavaggio. Preparare una diluizione appropriata (una diluizione 1:2000 è considerata soddisfacente) di perossidasi coniugato nel tampone di bloccaggio diluente ed aggiungere 100 µl a ciascun pozzetto. Incubare a 37 °C in atmosfera umida per 1 h. Lavare le piastre accuratamente con il tampone di lavaggio. Aggiungere 100 µl di perossidasi substrato a ciascun pozzetto, lasciare a riposo a temperatura ambiente, al riparo dalla luce per 30 min. Leggere le piastre a 405 nm rispettando l'ordine seguito quando è stato aggiunto il substrato.

Determinazione del titolo di anticorpi nel siero di cavia mediante dosaggio su cellule Vero. Il metodo utilizzato è basato sia sull'inibizione metabolica (metodo 1) sia sulla citotossicità (metodo 2) come punto finale e sull'ispezione microscopica (morfologia cellulare) o ad occhio nudo (colorazione) delle cellule.

Il limite di rivelazione specifico per ciascuna antitossina si colloca generalmente tra 0,015 U.I./ml (metodo 1) e 0,05 U.I./ml (metodo 2).

Il punto finale è considerato come la diluizione più elevata di siero capace di proteggere le cellule dagli effetti della tossina difterica. L'attività dell'antitossina è calco-

lata per confronto con la cavia o lo Standard di riferimento dell'Organizzazione Mondiale della Sanità ed è espressa in Unità Internazionali per millilitro.

Reattivi e apparecchiature

- *Piastre di coltura cellulare a fondo piatto:* 96 pozzetti, colonne 1-12, linee A-H.
- *Flaconi per coltura dei tessuti di 75 cm².*
- *Tossina difterica.*
- *Siero antidifterico di cavia (per vaccini per uso umano)* (siero di controllo positivo), ottenuto immunizzando le cavie con il *vaccino difterico adsorbito PBR.*
- *Cellule Vero* (cellule di rene di Scimmia Verde Africana). Le cellule dei passaggi da P2 a P15 sono appropriate per l'uso.

Metodo 1. La tossina difterica provoca un effetto citopatico sulle cellule Vero che porta alla lisi cellulare. Gli anticorpi diretti contro la tossina difterica possono inibire questo effetto citopatico. Conseguentemente l'attività del vaccino difterico può essere determinata in maniera indiretta con l'ausilio di questo sistema di coltura cellulare se differenti diluizioni di siero di animali immunizzati sono coltivate con una concentrazione costante di tossina. Nel dosaggio su cellule Vero, una colorazione gialla indica cellule vitali, una colorazione rossa segnala le cellule morte. Se le cellule non sono tutte morte la colorazione può essere arancione.

Reattivi e apparecchiature

- *MEM modificato.* Il Terreno di coltura MEM (Minimum Essential Medium) addizionato con i sali di Earle, senza L-glutamina e sodio bicarbonato.
- *Terreno 199 modificato.* Terreno 199 con soluzione di Hanks e L-glutamina, senza sodio bicarbonato.
- *Siero bovino fetale.*
- *Sodio bicarbonato soluzione al 7,5 per cento.*
- *Tripsina soluzione.* Tripsina soluzione al 2,5 per cento.
- *EDTA soluzione.* EDTA soluzione allo 0,02 per cento (Versene 1:5000).
- *D-PBS modificato.* Tampone fosfato soluzione di Dulbecco (D-PBS), senza calcio o magnesio.
- *L-glutamina soluzione 200 mM.*
- *Penicillina/streptomicina soluzione.*
- *Terreno di coltura primario.* A 50 ml di terreno di coltura MEM, aggiungere 440 ml di *acqua R*, 5 ml di soluzione di L-glutamina 200 mM e 10 ml di sodio bicarbonato soluzione al 7,5 per cento. A 25 ml di questo terreno aggiungere 1,25 ml di siero bovino fetale.

Dosaggio del vaccino difterico adsorbito

- *Terreno di coltura di mantenimento.* Simile al terreno di coltura primario ad eccezione del volume di siero bovino fetale di 0,5 ml anziché di 1,25 ml e che è aggiunto a 20 ml di terreno di coltura MEM arricchito.
- *Terreno A.* A 50,0 ml di terreno 199, aggiungere 440,0 ml di *acqua R*, 5,0 ml di L-glutammina soluzione 200 mM e 10,0 ml di sodio bicarbonato soluzione al 7,5 per cento.
- *Terreno B.* A 150,0 ml di terreno A aggiungere 3,0 ml di siero bovino fetale e 0,3 ml di penicillina/streptomicina soluzione.
- *Terreno C.* A 22,0 ml di terreno A, aggiungere 0,44 ml di siero bovino fetale e 0,44 ml di penicillina/streptomicina soluzione.

Le cellule Vero sono coltivate in flaconi per coltura tessutale (per esempio 75 cm²/250 ml) in un incubatore a 36 ± 1 °C con un contenuto di CO₂ del 5 per cento ed un'umidità relativa del 90 per cento. Le cellule Vero sono state coltivate inizialmente nel terreno di coltura primario; dopo 2-3 giorni dalla crescita, il terreno di coltura primario è sostituito dal terreno di coltura di mantenimento. Quando si è ottenuto un monostrato confluyente eliminare il surnatante della coltura e lavare dolcemente lo strato cellulare con D-PBS modificato. Aggiungere al flacone una miscela di 1 volume di tripsina soluzione e 1 volume di EDTA soluzione. Agitare dolcemente il flacone e trasferirlo nell'incubatore a CO₂ per circa 3 min fino a quando le cellule cominciano a separarsi dal monostrato cellulare. Picchiettare energicamente la parete del flacone per far discendere le cellule. Porre di nuovo in sospensione le cellule in 5-6 ml di terreno C fresco in modo da ottenere una sospensione omogenea. Preparare una sospensione cellulare nel terreno C contenente circa 1 × 10⁵ cellule/ml. Introdurre 25 µl di terreno B in ciascun pozzetto ad eccezione di quelli della colonna 1. Trasferire 25 µl di siero antidifterico di cavia (per vaccini per uso umano) (siero di controllo positivo, diluizione di lavoro nel terreno B di 0,40 U.I./ml) nei pozzetti A1, A2 e A11. Introdurre 25 µl dei campioni di siero cavia nei pozzetti B-G delle colonne 1, 2 e 11. Introdurre 25 µl del siero di controllo negativo nella fila H delle colonne 1,2 e 11. Con l'ausilio di una micropipetta multicanale effettuare una serie di diluizioni 1:2 attraverso la piastra (dalla colonna 2 fino alla colonna 10 per le file A-G e fino alla colonna 8 per la fila H). Eliminare 25 µl dai pozzetti della colonna 10 nelle file A-G e dal pozzetto H8.

Ricostituire la tossina difterica con la soluzione salina in modo da ottenere una soluzione 50 U.I./ml. Preparare una diluizione 1:50 di questa tossina difterica nel terreno B in modo da ottenere una soluzione di lavoro 1,0 U.I./ml. Aggiungere 25 µl di questa soluzione di

lavoro nei pozzetti A12 e B12 (tossina di confronto). Effettuare una diluizione 1:2 trasferendo 25 µl da un pozzetto al pozzetto successivo, dal pozzetto B12 fino al pozzetto H12. Cambiare il puntale tra una diluizione e l'altra. Eliminare 25 µl dal pozzetto H12. Aggiungere 25 µl di terreno B ai pozzetti B12-H12. Trasferire dopo 25 µl della diluizione di lavoro della tossina (1,0 UI/ml) in ciascuno dei pozzetti delle file A-H, dalle colonne 1-10 ad eccezione dei pozzetti H9 e H10 (soltanto le cellule senza siero né tossine).

Coprire le piastre con coperchi o con film di plastica ed agitare dolcemente. Incubare le piastre in un recipiente umido in un incubatore a CO₂ a 37 °C per almeno 2 h. Aggiungere 200 µl di una sospensione di cellule contenenti 1 × 10⁵ cellule/ml in tutti i pozzetti. Coprire le piastre con un film di plastica. Incubare a 37 °C per 5 giorni. Ricercare un'eventuale contaminazione microbica mediante esame microscopico.

I pozzetti colorati in giallo sono registrati come negativi e i pozzetti colorati in rosso, colore che segnala le cellule morte, sono registrati come positivi. Una colorazione tra il giallo e il rosso indica la presenza contemporanea di cellule vitali e di cellule morte ed è registrata come positivo/negativo. I risultati basati su cambiamenti di colore possono essere confermati verificando la presenza di cellule vitali o morte al microscopio.

L'attività dei campioni di sierimmune di cavia è ottenuta confrontando l'ultimo pozzetto della preparazione di riferimento che presenta una neutralizzazione completa della tossina con l'ultimo pozzetto del campione che presenta un effetto identico. Per calcolare l'attività si deve ricordare che il punto finale si può collocare tra un pozzetto negativo e un pozzetto positivo/negativo.

Metodo 2. Il blu di tiazolile MTT è ridotto in formazan blu/nero dalla deidrogenasi mitocondriale delle cellule vitali e quindi serve come misura quantitativa delle cellule vitali e indica quindi che la tossina è stata neutralizzata dall'antitossina. Pozzetti bianchi o incolori indicano l'assenza di cellule vitali a causa della quantità di antitossina insufficiente a neutralizzare la tossina.

Reattivi e apparecchiature

- *Terreno di coltura MEM (Minimal Essential Media).*
- *Siero di vitello appena nato.*
- *Antibiotico soluzione* (contenente 10000 unità di penicillina, 10 mg di streptomicina e 25 g di anfotericina B per millilitro).
- *L-glutammina soluzione 200 mM.*
- *Tripsina EDTA.*
- *Tiazolil blu (MTT) [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro].*

- *Tampone HEPES 1 M a pH 8,1.* Disciogliere 18,75 g di HEPES in 82,5 ml di *acqua R* e 30,0 ml di *sodio idrossido 2 MR*.
- *Glucosio soluzione al 10 per cento.*
- *Terreno di coltura integrale.* Mescolare 200 ml di terreno di coltura MEM con 10 ml di siero di vitello appena nato, 3,0 ml di tampone HEPES 1 M a pH 8,1, 2,0 ml di glucosio soluzione al 10 per cento, 2,0 ml di antibiotico soluzione e 2,0 ml di L-glutamina soluzione 200 mM.
- *Soluzione salina tamponata fosfato a pH 7,4 (PBS).* Disciogliere 10,0 g di *sodio cloruro R*, 0,75 g di *potassio cloruro R*, 1,44 g di *sodio fosfato dibasico R* e 0,125 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Correggere il pH (2.2.3), se necessario. Scaldare in autoclave a 120 °C per 15 min.
- *Tiazolil blu soluzione MMT.* Disciogliere 0,1 g di tiazolil blu MTT in 20 ml di PBS. Procedere con la sterilizzazione per filtrazione (0,2 µm) e conservare in una bottiglia di vetro scuro.
- *Soluzione di correzione del pH.* Mescolare 40 ml di *acido acetico R* con 1,25 ml di *acido cloridrico 1M* e 8,75 ml di *acqua R*.
- *Tampone di estrazione a pH 4,7 soluzione.* Disciogliere 10 g di *sodio laurilsolfato R* in *acqua R* e aggiungere 50 ml di *dimetilformammide R*. Diluire a 100 ml con *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) con un volume appropriato di soluzione di correzione del pH.

Coltivare le cellule Vero in flaconi per la coltura dei tessuti (per esempio 75 cm²/250 ml) in incubatore a 36 ± 1 °C, con un contenuto del 5 per cento di CO₂ ed umidità relativa del 90 per cento. Le cellule Vero sono moltiplicate nel terreno di coltura integrale. Dopo 6-7 giorni di crescita si ottiene un monostrato confluento, eliminare il surnatante della coltura e lavare lo strato cellulare per tre volte con tripsina-EDTA: con l'aiuto di una pipetta prelevare con precauzione il terreno, aggiungere 0,5-1 ml di tripsina-EDTA, agitare il flacone e versare fuori dal flacone. Ripetere l'operazione una seconda volta e la terza volta porre il flacone in incubatore per 5 minuti fino a quando le cellule cominciano a separarsi dal monostrato. Picchiare energicamente le pareti del flacone per far discendere le cellule. Porre di nuovo in sospensione le cellule in 6-25 ml di terreno di coltura integrale fresco in modo da ottenere una sospensione omogenea. Preparare una sospensione nel terreno di coltura integrale contenente circa 4 × 10⁵ cellule/ml.

Trasferire 50 µl di terreno di coltura integrale in tutti i pozzetti ad eccezione di quelli della colonna 1. Intro-

durire 100 µl di siero antidifterico di cavia (per vaccini per uso umano) (siero di controllo positivo, diluizione di lavoro in terreno di coltura integrale di 0,12 U.I./ml) nel pozzetto A1 e 50 µl nel pozzetto A11. Introdurre 100 µl del campione di siero di cavia da analizzare, diluito se necessario, nei pozzetti B1-G1. Aggiungere 50 µl dello stesso campione ai pozzetti B11-G11 della fila corrispondente. Introdurre 100 µl di controllo negativo nel pozzetto H1 e 50 µl nel pozzetto H11. Con l'aiuto di una micropipetta multicanale, effettuare delle serie di diluizioni 1:2 trasferendo 50 µl da un pozzetto a quello successivo della piastra (dalle colonne 1-10 per le file A-G e dalle colonne 1-8 per la fila H).

Diluire la tossina difterica con attività e con contenuto Lf noti ad una diluizione di lavoro appropriata contenente almeno 4 dosi citopatiche nel terreno di coltura integrale. Aggiungere 50 µl della tossina diluita in tutti i pozzetti ad eccezione dei pozzetti H9 e H10 (cellule di confronto), dei pozzetti A11-H11 (siero di controllo) e dei pozzetti A12-H12 (tossina di confronto). Aggiungere 100 µl di tossina diluita al pozzetto A12 ed effettuare una diluizione 1:2 trasferendo 50 µl da un pozzetto a quello successivo lungo la lastra (a partire dai pozzetti A12-H12). Eliminare 50 µl dal pozzetto H12 ed aggiungere 50 µl di terreno di coltura integrale ai pozzetti H9 e H10.

Coprire le piastre con un coperchio o con una pellicola di plastica e lasciare a riposo per 1 h a temperatura ambiente per permettere la neutralizzazione della tossina. Aggiungere 50 µl di una sospensione cellulare contenente circa 4 × 10⁵ cellule/ml in tutti i pozzetti. Sigillare le piastre ed incubare a 37 °C per 6 giorni. Ricercare una eventuale contaminazione microbica mediante esame microscopico. Aggiungere 10 µl di tiazolil blu soluzione MTT in ciascun pozzetto. Incubare le piastre a 37 °C per ulteriori 2-4 h. Dopo eliminare il terreno di coltura ed aggiungere 100 µl di tampone di estrazione a pH 4,7 in ciascun pozzetto. Incubare le piastre a 37 °C per una notte per facilitare il processo di estrazione. Dopo aver effettuato l'estrazione e la solubilizzazione esaminare le piastre ad occhio nudo oppure effettuare una lettura a 570 nm.

I pozzetti blu/neri sono registrati come negativi (tutte le cellule sono vive, la tossina è neutralizzata dall'antitossina) e i pozzetti bianchi o incolori che indicano la presenza di cellule morte (nessuna neutralizzazione della tossina) sono registrati come positivi.

L'attività dell'antitossina da esaminare è ottenuta confrontando l'ultimo pozzetto della preparazione di antitossina di riferimento che presenta una neutralizzazione della tossina con l'ultimo pozzetto di preparazione di antitossina che presenta un effetto identico. Il titolo di anticorpi neutralizzanti il campione in esame

può essere calcolato moltiplicando il fattore di diluizione per il numero totale di Unità Internazionali per millilitro della preparazione di riferimento al punto finale. Il saggio è valido se tutte le cellule nella tossina di controllo sono morte e se l'antitossina di riferimento provoca una neutralizzazione per almeno le prime due diluizioni sottoposte a saggio.

2.7.7. DOSAGGIO DEL VACCINO PERTOSSICO

L'attività biologica del vaccino pertossico si determina confrontando la dose di vaccino necessaria per proteggere i topi dagli effetti di una dose letale di *Bordetella pertussis*, somministrata per via intracerebrale, con la quantità di una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali, necessaria per ottenere la stessa protezione.

L'Unità Internazionale è l'attività biologica contenuta in una quantità definita dello Standard Internazionale, che è costituito da una quantità di vaccino pertossico essiccato. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Selezione e ripartizione degli animali in esame. Utilizzare nel saggio topi sani dell'età non superiore a 5 settimane e di un ceppo appropriato proveniente dallo stesso allevamento; la differenza di massa tra il topo più pesante e quello più leggero non deve essere superiore a 5 g. Suddividere gli animali in 6 gruppi uguali di almeno 16 topi e 4 gruppi di 10. I topi devono essere dello stesso sesso o, altrimenti, i maschi e le femmine devono essere ripartiti in modo uguale tra i gruppi.

Selezione del ceppo di prova e preparazione della sospensione di prova. Selezionare un ceppo appropriato di *B. pertussis* in grado di causare la morte dei topi entro 14 giorni dall'iniezione intracerebrale. Se più del 20 per cento dei topi muore entro 48 h dalla somministrazione, il ceppo non è idoneo. Preparare una sottocoltura a partire dal ceppo e sospendere la *B. pertussis* raccolta in una soluzione contenente 10 g/l di idrolizzato di caseina e 6 g/l di sodio cloruro ed avente un pH di 7,0–7,2 o in un'altra soluzione appropriata. Determinare l'opacità della sospensione. Preparare una serie di diluizioni con la stessa soluzione ed attribuire ciascuna diluizione ad un gruppo di 10 topi. Iniettare, per via intracerebrale, a ciascun topo la dose (0,02–0,03 ml) della diluizione attribuita al suo gruppo. Dopo 14 giorni contare il numero di topi sopravvissuti in ciascun gruppo. A partire dai risultati calcolare l'opacità presunta di una sospensione contenente 100 DL₅₀ in ciascuna dose di prova. Per il saggio del vaccino da esaminare preparare una sottocoltura recente dallo stesso ceppo di *B. pertussis* e preparare una sospensione del

microrganismo raccolto con un'opacità corrispondente circa a 100 DL₅₀ in ciascuna dose di prova. Preparare tre diluizioni della sospensione di prova.

Determinazione dell'attività biologica. Preparare 3 diluizioni seriali del vaccino da esaminare e 3 diluizioni simili della preparazione di riferimento in modo che si possa presumere che le diluizioni intermedie proteggano circa il 50 per cento degli animali dagli effetti letali della dose di prova di *B. pertussis*. Le dosi suggerite sono 1/8, 1/40 ed 1/200 della dose umana del vaccino da esaminare e 0,5 U.I., 0,1 U.I. ed 0,02 U.I. della preparazione di riferimento e ciascuna dose è contenuta in un volume non superiore a 0,5 ml. Attribuire le sei diluizioni una per ciascun gruppo di almeno 16 topi ed iniettare, per via intraperitoneale, a ciascun topo una dose della diluizione attribuita al gruppo. Dopo 14–17 giorni iniettare, per via intracerebrale, a ciascun animale di un gruppo di almeno 16 topi una dose della sospensione di prova. Attribuire la sospensione di prova e 3 sue diluizioni una per ciascun gruppo di almeno 10 topi ed iniettare, per via intracerebrale, una dose di ciascuna sospensione a ciascun animale del gruppo al quale è attribuita la sospensione. Non si devono considerare i topi che muoiono entro 48 h dalla prova. Contare il numero di topi sopravvissuti in ciascun gruppo dopo 14 giorni. Calcolare l'attività biologica del vaccino in esame in rapporto a quella della preparazione di riferimento, sulla base del numero di animali sopravvissuti in ciascun gruppo di almeno 16 animali.

Il saggio è valido solo se:

- per il vaccino da esaminare e per la preparazione di riferimento la dose protettiva al 50 per cento è compresa tra la dose più grande e quella più piccola somministrata ai topi;
- il numero di animali che muore nei 4 gruppi di 10 topi inoculati con la sospensione di prova e con le sue diluizioni indica che la dose di prova è approssimativamente 100 DL₅₀;
- l'analisi statistica non mostra deviazioni dalla linearità o dal parallelismo.

Il saggio può essere ripetuto ma quando viene eseguito più di una volta i risultati di tutti i saggi validi devono essere combinati.

2.7.8. DOSAGGIO DEL VACCINO TETANICO ADSORBITO

L'attività biologica del vaccino tetanico adsorbito si determina mediante somministrazione del vaccino agli animali (cavie o topi) seguita o da una prova virulenta con la tossina tetanica (metodo A e B) o dalla determinazione del titolo di anticorpi diretti contro l'anatos-

sina tetanica nel siero di cavie (metodo C). In entrambi i casi, l'attività biologica del vaccino è calcolata mediante confronto con un vaccino di riferimento, titolata in Unità Internazionali.

Per i metodi A e B nei Paesi in cui il metodo paralizzante non è obbligatorio si può usare il metodo della DL_{50} . Per il metodo della DL_{50} il numero di animali e la procedura sono identici a quelli descritti per il metodo paralizzante ma il punto finale è la morte degli animali invece della paralisi.

L'Unità Internazionale è l'attività biologica contenuta in una quantità definita dello Standard Internazionale di anatossina tetanica adsorbita. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Il *vaccino tetanico adsorbito PBR* è titolato in Unità Internazionali per confronto con lo Standard Internazionale.

Il metodo scelto per il dosaggio del vaccino tetanico adsorbito dipende dallo scopo del dosaggio. I metodi A o B sono utilizzati:

1. nel corso dello sviluppo di un vaccino, per sottoporre a dosaggio i lotti prodotti per convalidare la produzione;
2. ogni volta che è necessaria una nuova convalida a seguito di un cambiamento significativo nel processo di fabbricazione.

I metodi A o B possono essere anche utilizzati per il dosaggio di routine dei lotti di vaccino, ma nell'interesse del benessere animale si utilizza, ogni volta che è possibile, il metodo C.

Il metodo C può essere utilizzato, con l'eccezione dei casi specificati nei punti 1 e 2, dopo verifica dell'idoneità del metodo per il prodotto. A questo scopo, titolare un numero appropriato di lotti (generalmente 3) con il metodo C e il metodo A o B. Se differenti vaccini (monovalenti o combinati) sono preparati a partire dalla tossina tetanica della stessa origine e con livelli comparabili (espressi in Lf/ml) della stessa tossina tetanica, si può assumere che l'idoneità dimostrata per la combinazione con il numero più alto di componenti sia valida anche per le combinazioni con un numero minore di componenti e per i vaccini monovalenti. Qualsiasi combinazione contenente la componente pertossica a cellula intera o contenente il vaccino coniugato dell'emofilo tipo b e l'anatossina tetanica nello stesso flacone deve essere sempre valutata separatamente.

Per le combinazioni contenenti le componenti tetanica e difterica, il dosaggio sierologico (metodo C) può essere effettuato con lo stesso gruppo di animali usati per il dosaggio sierologico del vaccino difterico adsorbito (2.7.6) quando le condizioni di immunizzazione

comuni per le componenti tetanica e difterica (per esempio, dosi, durata) hanno dimostrato di essere valide per il vaccino combinato.

Il protocollo dei dosaggi descritti di seguito usa diluizioni multiple per le preparazioni in esame e la preparazione di riferimento. Sulla base dei dati dell'attività biologica ottenuta nei dosaggi a diluizione multipla, si può ridurre il numero degli animali necessari per ottenere un risultato statisticamente significativo applicando un modello semplificato come il modello a diluizione singola per la preparazione in esame e la preparazione di riferimento. Un modello tale permette all'analista di determinare se l'attività biologica della preparazione in esame è significativamente più alta del minimo richiesto ma non dà informazioni sulle curve dose-risposta e sulla loro linearità, parallelismo e pendenza significativa. Il modello semplificato permette una riduzione considerevole del numero di animali richiesto e deve essere considerato da ciascun analista in accordo con le disposizioni della European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

Quando è utilizzato un dosaggio a diluizione singola, la riproducibilità della produzione e del dosaggio è controllata con l'ausilio di indicatori appropriati e effettuando periodicamente un dosaggio a diluizione multipla completo, per esempio ogni 2 anni. Per i dosaggi sierologici, indicatori appropriati per controllare la riproducibilità del saggio sono:

- la media e la deviazione standard dei titoli relativi dei sierimmuni o dei titoli dei campioni di siero ottenuti dopo somministrazione di una determinata dose del vaccino di riferimento;
- i titoli di anatossine o i livelli dei sierimmuni di controllo (campioni di siero positivo e negativo);
- il rapporto tra i titoli o i livelli di anatossine del siero di controllo positivo e dei campioni del siero corrispondente del vaccino di riferimento.

METODO A. SAGGIO DI VIRULENZA SU CAVIE

SELEZIONE E RIPARTIZIONE DEGLI ANIMALI IN ESAME

Utilizzare nel saggio cavie sane, ciascuna di 250–350 g, provenienti da un medesimo allevamento. Usare cavie dello stesso sesso o, altrimenti, i maschi e le femmine devono essere ripartiti in modo uguale fra i gruppi. Suddividere gli animali in almeno 6 gruppi uguali; usare gruppi costituiti da un numero di animali sufficiente per ottenere risultati che soddisfino ai requisiti di validità del dosaggio descritti di seguito. Se deve essere dimostrata l'attività della tossina di prova, aggiungere altri 3 gruppi di 5 cavie come controlli non vaccinati.

SELEZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Selezionare una preparazione di tossina tetanica che contiene almeno cinquanta volte la dose paralizzante al 50 per cento per millilitro. Se è stato dimostrato che la preparazione della tossina di prova è stabile, non è necessario verificare la dose paralizzante in ogni dosaggio.

PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Immediatamente prima dell'uso diluire la tossina di prova con un adatto diluente (per esempio, peptone soluzione salina tamponata a pH 7,4) in modo da ottenere una soluzione della tossina di prova che contiene approssimativamente cinquanta volte la dose paralizzante al 50 per cento per millilitro. Se necessario usare aliquote della soluzione della tossina di prova 1:16, 1:50 e 1:160 con lo stesso diluente per determinare l'attività della tossina.

DILUIZIONE DELLA PREPARAZIONE IN ESAME E DELLA PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO.

Usando una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* preparare delle diluizioni del vaccino da esaminare e della preparazione di riferimento tali che, in entrambi i casi, esse formino una serie in cui il rapporto tra le diluizioni non sia superiore a 2,5 e che le diluizioni intermedie quando sono inoculate, per via sottocutanea, alla dose di 1,0 ml per cavia proteggano circa il 50 per cento degli animali dagli effetti paralizzanti della quantità di tossina tetanica, prescritta per questo saggio, inocolata per via sottocutanea.

IMMUNIZZAZIONE ED INFEZIONE DI PROVA

Attribuire una diluizione a ciascun gruppo di cavie ed iniettare per via sottocutanea 1,0 ml di ciascuna diluizione a tutti gli animali del gruppo al quale essa è destinata. Dopo 28 giorni iniettare, per via sottocutanea, a ciascun animale 1,0 ml della soluzione di tossina di prova (contenente cinquanta volte la dose paralizzante al 50 per cento).

DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITÀ BIOLOGICA DELLA TOSSINA DI PROVA

Se necessario attribuire la soluzione della tossina di prova e tre sue diluizioni, ciascuna ad uno dei 3 gruppi di 5 cavie ed iniettare per via sottocutanea 1,0 ml di ciascuna soluzione a ogni cavia del gruppo al quale la soluzione è attribuita. L'attività e la stabilità della tossina di prova sono determinate effettuando un numero appropriato di determinazioni della dose paralizzante al 50 per cento. Non è allora necessario ripetere questa determinazione per ciascun dosaggio.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare le cavie 2 volte al giorno. Eliminare e sacrificare quelle che presentano chiari segni di paralisi tetanica. Cinque giorni dopo l'inoculazione della tossina di prova registrare il numero di cavie che non presentano paralisi. Calcolare l'attività biologica del vaccino da esaminare in rapporto a quella della preparazione di riferimento, sulla base della proporzione di animali sottoposti al saggio esenti da paralisi in ognuno dei gruppi di cavie vaccinate, utilizzando i metodi statistici usuali (per es. 5.3).

REQUISITI DI VALIDITÀ

Il saggio è valido solo se:

- per il vaccino da esaminare e per la preparazione di riferimento la dose protettiva al 50 per cento è compresa tra la dose più grande e quella più piccola somministrate agli animali;
- se del caso, il numero degli animali paralizzati nei 3 gruppi di 5 cavie inoculate con la soluzione della tossina di prova e con le sue diluizioni indica che la dose di prova è approssimativamente cinquanta volte la dose paralizzante al 50 per cento;
- i limiti fiduciali del dosaggio ($P = 0,95$) sono compresi tra il 50 per cento e il 200 per cento dell'attività biologica misurata;
- l'analisi statistica mostra che la curva dose-risposta ha una pendenza significativa e non mostra deviazioni dalla linearità o dal parallelismo (se si osservano deviazioni significative il capitolo 5.3. descrive possibili alternative).

Il saggio può essere ripetuto, ma in questo caso i risultati di tutti i saggi validi devono essere combinati nella valutazione dell'attività biologica.

METODO B. SAGGIO DI VIRULENZA SU TOPI

SELEZIONE E RIPARTIZIONE DEGLI ANIMALI IN ESAME

Utilizzare nel saggio topi sani dell'età di circa 5 settimane e di un ceppo riconosciuto appropriato, provenienti da un medesimo allevamento. Suddividere gli animali in almeno 6 gruppi uguali; usare gruppi costituiti da un numero di animali sufficiente per ottenere risultati che soddisfino ai requisiti di validità prescritti di seguito. Se non è stata dimostrata la stabilità della tossina di prova o se questa non è stata adeguatamente standardizzata, aggiungere altri 3 gruppi di 5 topi ciascuno come controlli non vaccinati. Usare topi dello stesso sesso o, altrimenti, i maschi e le femmine devono essere ripartiti in modo uguale tra i gruppi.

SELEZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Selezionare una preparazione di tossina tetanica che contiene almeno cento volte la dose paralizzante al 50 per cento per ml. Se è stato dimostrato che la preparazione della tossina di prova è stabile, non è necessario verificare la dose paralizzante in ogni dosaggio.

PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DELLA TOSSINA DI PROVA

Immediatamente prima dell'uso diluire la tossina di prova con un adatto diluente in modo da ottenere una soluzione della tossina di prova che contiene approssimativamente cinquanta volte la dose paralizzante al 50 per cento in 0,5 ml. Se necessario diluire un'aliquota della soluzione della tossina di prova 1:16, 1:50 e 1:160 con lo stesso diluente per determinare l'attività della tossina.

DILUIZIONE DELLA PREPARAZIONE IN ESAME E DELLA PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO

Usando una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* preparare delle diluizioni del vaccino da esaminare e della preparazione di riferimento tali che, in entrambi i casi, esse formino una serie in cui il rapporto tra le diluizioni non sia superiore a 2,5 e che le diluizioni intermedie, quando sono inoculate per via sottocutanea alla dose di 0,5 ml per topo, proteggano circa il 50 per cento degli animali dagli effetti paralizzanti della quantità di tossina tetanica, prescritta per questo saggio, inocolata per via sottocutanea.

IMMUNIZZAZIONE ED INFEZIONE DI PROVA

Attribuire una diluizione a ciascun gruppo di topi ed iniettare per via sottocutanea 0,5 ml di ciascuna diluizione a tutti gli animali del gruppo al quale essa è destinata. Dopo 28 giorni iniettare, per via sottocutanea, a ciascun animale 0,5 ml della soluzione di tossina di prova (contenente cinquanta volte la dose paralizzante al 50 per cento).

DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITÀ BIOLOGICA DELLA TOSSINA DI PROVA

Se necessario attribuire la soluzione della tossina di prova e tre sue diluizioni, ciascuna ad uno di 3 gruppi di 5 topi ed iniettare per via sottocutanea 0,5 ml di ciascuna soluzione a ciascun topo del gruppo al quale la soluzione è attribuita.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare i topi 2 volte al giorno. Eliminare e sacrificare quelli che presentano chiari segni di paralisi tetanica. 4 giorni dopo l'inoculazione della tossina di prova registrare il numero di topi che non presentano paralisi. Calcolare l'attività biologica del vaccino da esaminare in rapporto a quella della preparazione di riferi-

mento, sulla base della proporzione di animali, sottoposti al saggio, esenti da paralisi in ognuno dei gruppi di topi vaccinati, utilizzando i metodi statistici usuali (per es. 5.3).

REQUISITI DI VALIDITÀ

Il saggio è valido solo se:

- per il vaccino da esaminare e per la preparazione di riferimento la dose protettiva al 50 per cento è compresa tra la dose più grande e quella più piccola somministrate ai topi;
- se del caso, il numero degli animali paralizzati nei 3 gruppi di 5 topi inoculati con la soluzione della tossina di prova e con le sue diluizioni indica che la dose di prova è approssimativamente cinquanta volte la dose paralizzante al 50 per cento;
- i limiti fiduciali del dosaggio ($P = 0,95$) sono compresi tra il 50 per cento e il 200 per cento dell'attività biologica misurata;
- l'analisi statistica mostra che la curva dose-risposta ha una pendenza significativa e non mostra deviazioni dalla linearità o dal parallelismo (se si osservano deviazioni significative il capitolo 5.3 descrive possibili alternative).

Il saggio può essere ripetuto, ma in questo caso i risultati di tutti i saggi validi devono essere combinati nella valutazione dell'attività biologica.

METODO C. DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI NELLE CAVIE

SELEZIONE E RIPARTIZIONE DEGLI ANIMALI IN ESAME

Utilizzare nel saggio cavie sane, ciascuna del peso di 250-350 g, provenienti da un medesimo allevamento. Usare cavie dello stesso sesso o altrimenti i maschi e le femmine devono essere ripartiti in modo uguale fra i gruppi. Suddividere gli animali in almeno 6 gruppi uguali; usare gruppi costituiti da un numero sufficiente di animali in modo da ottenere risultati che soddisfino ai requisiti di validità del dosaggio descritti di seguito. Usare un ulteriore gruppo di cavie non vaccinate della stessa origine per fornire un siero di controllo negativo. Se si deve dimostrare la riproducibilità del dosaggio si può utilizzare un siero di controllo negativo.

PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO

Utilizzare una preparazione di riferimento appropriata come il *vaccino tetanico adsorbito PBR* o un lotto di vaccino che si è dimostrato efficace nei saggi clinici o un altro lotto rappresentativo e che è stato standardizzato in Unità Internazionali per confronto con il *vaccino adsorbito PBR* o con lo standard internazionale di tossina tetanica adsorbita.

Dosaggio del vaccino tetanico adsorbito

DILUIZIONE DELLA PREPARAZIONE IN ESAME E DELLA PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO

Usando una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro *R* preparare delle diluizioni del vaccino da esaminare e della preparazione di riferimento tali che, in entrambi i casi, esse formino una serie in cui il rapporto tra le diluizioni sia compreso tra 2,5-5. Utilizzare almeno 3 diluizioni entro l'intervallo di 0,5–16 U.I./ml per ciascuna serie. Utilizzare le diluizioni per l'immunizzazione, preferibilmente entro 1 h dalla preparazione. Attribuire 1 diluizione a ciascun gruppo di cavie.

IMMUNIZZAZIONE

Iniettare, per via sottocutanea, a ciascuna cavia 1,0 ml della diluizione attribuita al suo gruppo.

PRELIEVO DEL SANGUE

Prelevare un campione di sangue mediante un metodo appropriato da ciascuna cavia, vaccinata e di controllo, 35-42 giorni dopo l'immunizzazione.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI DI SIERO

Evitare congelamenti e scongelamenti dei campioni di siero. Per evitare la contaminazione microbica è preferibile effettuare le manipolazioni sotto una cappa a flusso laminare

DETERMINAZIONE DEL TITOLO IN ANTICORPI

Determinare il titolo relativo in anticorpi o il livello di ciascun campione di siero mediante un metodo immunochimico appropriato (2.7.1). I metodi riportati di seguito (dosaggio ELISA ed inibizione del legame della tossina (ToBI)) sono stati giudicati appropriati.

CALCOLO DELL'ATTIVITÀ BIOLOGICA

Calcolare l'attività biologica del vaccino in esame in Unità Internazionali per confronto con la preparazione di riferimento, utilizzando i metodi statistici usuali (per es. 5.3).

REQUISITI DI VALIDITÀ

Il saggio è valido solo se:

- i limiti fiduciali del dosaggio ($P = 0,95$) sono compresi tra il 50 per cento e il 200 per cento dell'attività biologica misurata;
- l'analisi statistica mostra che la curva dose-risposta ha una pendenza significativa e non mostra deviazioni dalla linearità o dal parallelismo (se si osservano deviazioni significative il capitolo 5.3 descrive possibili alternative).

Il saggio può essere ripetuto ma in questo caso i risultati di tutti i saggi validi devono essere combinati nella valutazione dell'attività biologica.

La sezione riportata di seguito è pubblicata per informazione.

LINEA GUIDA PER LA REALIZZAZIONE DEL DOSAGGIO DEL VACCINO TETANICO ADSORBITO

METODO A. INFEZIONE DI PROVA NELLE CAVIE

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per ridurre la sofferenza degli animali nel corso del saggio si raccomanda di registrare il grado di paralisi su una scala come quella descritta di seguito. La scala fornisce segni tipici quando l'iniezione della tossina di prova è effettuata per via sottocutanea nella regione ventrale media, direttamente dietro lo sterno puntando l'ago verso il collo della cavia. Lo stadio T3 è preso come indicatore della fine del saggio, ma con l'esperienza lo stadio T3 può essere sostituito dalla stadio T2. La tossina tetanica produce una paralisi in almeno 1 zampa che può essere rivelata ad uno stadio precoce. I gradi di tetano nelle cavie possono essere caratterizzati mediante i segni seguenti:

- T1: leggera rigidità di una zampa anteriore, difficile da osservare;
- T2: paresi di una zampa anteriore, che può tuttavia continuare a funzionare;
- T3: paralisi di una zampa anteriore. L'animale è riluttante a muoversi, il corpo è spesso leggermente arcuato a causa della scoliosi;
- T4: una zampa anteriore è completamente rigida e le dita non possono muoversi. Le contrazioni muscolari della zampa anteriore sono molto evidenti e generalmente si osserva scoliosi;
- T5: crisi tetanica, spasmi tonici continui dei muscoli;
- D: morte.

METODO B. INFEZIONE DI PROVA NEI TOPI

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per ridurre la sofferenza degli animali nel corso del saggio, si raccomanda di registrare il grado di paralisi su una scala come quella descritta di seguito. La scala fornisce segni tipici quando l'iniezione della tossina di prova è effettuata per via sottocutanea nella regione dorsale, vicino una delle zampe posteriori. Lo stadio T3 è preso come indicatore della fine del saggio, ma con l'esperienza lo stadio T3 può essere sostituito dallo stadio T2. La tossina tetanica produce una paresi seguita da una paralisi della zampa posteriore, dove è stata iniettata la tossina, che può essere rivelata ad uno stadio precoce. I gradi di tetano nei topi possono essere caratterizzati mediante i segni seguenti:

- T1: leggera rigidità della zampa posteriore alla quale è stata iniettata la tossina, osservata unicamente quando il topino è sollevato per la coda;

- T2: paresi della zampa posteriore alla quale è stata iniettata la tossina, ma che permette ancora all'animale di camminare;
- T3: paralisi della zampa posteriore alla quale è stata iniettata la tossina che non permette più all'animale di camminare;
- T4: la zampa posteriore alla quale è stata iniettata la tossina è completamente rigida e le dita non possono muoversi;
- T5: crisi tetanica, spasmi tonici continui dei muscoli;
- D: morte.

METODO C. DETERMINAZIONE DEL TITOLO IN ANTICORPI NELLE CAVIE

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI DI SIERO

Per la preparazione dei campioni di siero, la tecnica seguente è stata giudicata appropriata. Capovolgere le provette contenenti campioni di sangue per 6 volte e lasciare a riposo a 37 °C per 2 h, dopo a 4 °C per 2 h. Centrifugare a temperatura ambiente a 800 g per 20 min. Trasferire il siero in provette sterili e conservare a temperatura inferiore a -20 °C. Con questa procedura si ottiene una resa di siero di almeno il 40 per cento.

DETERMINAZIONE DEL TITOLO DI ANTICORPI

I dosaggi ELISA e ToBI riportati di seguito sono indicati come esempio di metodi immunochimici che sono stati riscontrati appropriati per la determinazione del titolo in anticorpi.

Determinazione del titolo in anticorpi nel siero di cavia mediante dosaggio ELISA.

Effettuare la diluizione del siero in esame e del siero di riferimento su piastre ELISA ricoperte di tossina tetanica. Un siero di cavia di controllo positivo e un siero di cavia di controllo negativo sono inclusi in ciascuna piastra per controllare l'esecuzione del saggio. Si aggiungono anticorpi di coniglio o di capra anti-IgG di cavia coniugati alla perossidasi e poi un substrato di perossidasi. Calcolare la densità ottica e il contenuto relativo in anticorpi utilizzando i metodi statistici usuali (per es., 5.3).

Reattivi ed apparecchiatura

- *Piastre ELISA*: 96 pozzetti, colonne 1-12, linee A-H.
- *Siero di cavia anti-Clostridium tetani (vaccini per uso umano) PBR* (siero di controllo positivo).
- *Perossidasi coniugato*. Anticorpo di coniglio o di capra coniugato alla perossidasi e diretto contro l'IgG di cavia.
- *Anatossina tetanica*.

- *Tampone carbonato a pH 9,6*. Disciogliere 1,59 g di sodio carbonato anidro R e 2,93 g di sodio bicarbonato R in 1000 ml di acqua R. Distribuire in palloni da 150 ml e sterilizzare per riscaldamento in autoclave a 121 °C per 15 min.
- *Soluzione salina tamponata con fosfato a pH 7,4 (PBS)*. Disciogliere agitando 80,0 g di sodio cloruro R, 2,0 g di potassio fosfato monobasico R, 14,3 g di sodio fosfato monobasico diidrato R e 2,0 g di potassio cloruro R in 1000 ml di acqua R. Conservare a temperatura ambiente per prevenire la cristallizzazione. Diluire la soluzione 1:10 con acqua R prima dell'uso.
- *Acido citrico soluzione*. Disciogliere 10,51 g di acido citrico R in 1000 ml di acqua R e correggere a pH 4,0 con una soluzione 400 g/l di sodio idrossido R.
- *Tampone di lavaggio*. Utilizzare la soluzione PBS contenente 0,5 g/l di polisorbato 20 R.
- *Tampone di bloccaggio diluente*. Utilizzare la soluzione PBS contenente 0,5 g/l di polisorbato 20 R e 25 g/l di latte scremato essiccato.
- *Perossidasi substrato*. Poco prima dell'uso, disciogliere 10 mg di ammonio 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-solfonato) R (ABTS) in 20 ml di acido citrico soluzione. Immediatamente prima dell'uso aggiungere 5 µl di idrogeno perossido soluzione concentrata R.

Metodo

La descrizione riportata di seguito è a titolo di esempio ma possono essere utilizzate altre disposizioni appropriate di piastre. I pozzetti 1A-H sono utilizzati per il siero di controllo negativo e i pozzetti 2A-H e 12A-H sono utilizzati per il siero di controllo positivo per controllare l'esecuzione del saggio. I pozzetti 3-11A-H sono utilizzati per i campioni da analizzare.

Ricoprire ciascun pozzetto delle piastre ELISA con 100 µl di soluzione di anatossina tetanica (0,5 Lf/ml nel tampone carbonato a pH 9,6). Lasciare a riposo a 4 °C in atmosfera umida per l'intera notte. Per evitare effetti dovuti al gradiente di temperatura non sovrapporre più di 4 piastre l'una sull'altra. Il giorno successivo, lavare accuratamente le piastre con il tampone di lavaggio. Bloccare le piastre aggiungendo a ciascun pozzetto 100 µl di tampone di bloccaggio diluente. Incubare in atmosfera umida a 37 °C per 1 h. Lavare accuratamente le piastre con il tampone di lavaggio. Introdurre 100 µl di tampone di bloccaggio diluente in ciascun pozzetto della piastra, eccetto quelli della linea A. Preparare diluizioni appropriate del siero di controllo negativo, del siero di controllo positivo (a circa 0,01 U.I.) e del siero in esame. Attribuire il siero di controllo negativo alla colonna 1, il siero di controllo

Dosaggio del vaccino tetanico adsorbito

positivo alle colonne 2 e 12 e il siero in esame alle colonne 3-11 ed aggiungere 100 µl di ciascun siero ai primi due pozzetti della colonna alla quale è attribuito. Con l'ausilio di una micropipetta multicanale, effettuare delle serie di diluizioni 1:2 a partire dalla linea B fino alla linea H trasferendo 100 µl da un pozzetto al pozzetto successivo. Eliminare 100 µl dall'ultima fila in modo che tutti i pozzetti contengano 100 µl. Incubare a 37 °C per 2 h. Lavare accuratamente con il tampone di lavaggio. Preparare una diluizione appropriata (una diluizione 1:2000 è stata riscontrata appropriata) di perossidasi coniugato nel tampone di bloccaggio diluente ed aggiungere 100 µl a ciascun pozzetto. Incubare a 37 °C in atmosfera umida per 1 h. Lavare accuratamente le piastre con il tampone di lavaggio. Aggiungere a ciascun pozzetto 100 µl di perossidasi substrato. Lasciare a riposo a temperatura ambiente, al riparo dalla luce, per 30 min. Leggere le piastre a 405 nm rispettando l'ordine seguito nell'aggiungere il substrato.

Determinazione del titolo in anticorpi nel siero di cavia mediante inibizione del legame della tossina o dell'anatossina (ToBI). La tossina tetanica è aggiunta alle diluizioni in serie del siero in esame e del siero di riferimento; le miscele siero/antigene sono incubate per tutta la notte. Per determinare la quantità di tossina o anatossina libera, trasferire le miscele su una piastra ELISA ricoperta di anatossina tetanica. Aggiungere l'IgG antitetanica equina coniugata alla perossidasi, poi perossidasi substrato. Misurare la densità ottica e il titolo in anticorpi con i metodi statistici usuali (per esempio 5.3). Introdurre un siero di controllo positivo ed un siero di controllo negativo su ciascuna piastra per controllare la realizzazione del saggio.

Reattivi ed apparecchiature

- *Piastre di microtitolazione rigide, a fondo tondo, in polistirene.*
- *Piastre ELISA a fondo piatto.*
- *Tossina tetanica o anatossina tetanica.*
- *Siero di cavia anti-Clostridium tetani (vaccini per uso umano) PBR (siero di controllo positivo).*
- *IgG antitetanica equina.*
- *IgG antitetanica equina coniugata alla perossidasi.*
- *Tampone carbonato a pH 9,6.* Disciogliere 1,5 g di sodio carbonato anidro R, 2,39 g di sodio bicarbonato R e 0,2 g di sodio azide R in 1000 ml di acqua R. Correggere il pH a 9,6 e scaldare in autoclave a 121 °C per 20 min.
- *Tampone sodio acetato a pH 5,5.* Disciogliere 90,2 g di sodio acetato anidro R in 900 ml di acqua R, correggere il pH a 5,5 con una soluzione satura di acido citrico monoidrato R e diluire a 1000 ml con acqua R.
- *Soluzione salina tamponata fosfato a pH 7,2 (PBS).* Disciogliere 135,0 g di sodio cloruro R, 20,55 g di sodio fosfato dibasico diidrato R e 4,80 g di sodio fosfato monobasico monoidrato R in acqua R e diluire a 15 litri con lo stesso solvente. Scaldare a 100 °C per 60 min.
- *Tampone di diluizione.* Utilizzare la soluzione PBS contenente 5 g/l di albumina bovina R e 0,5 g/l di polisorbato 80 R.
- *Tampone di bloccaggio.* Utilizzare la soluzione PBS contenente 5 g/l di albumina bovina R.
- *Tetrametilbenzidina soluzione.* Una soluzione 6 g/l di tetrametilbenzidina R in etanolo (96 per cento) R. La sostanza si scioglie entro 30-40 min a temperatura ambiente.
- *Perossidasi substrato.* Mescolare 90 ml di acqua R, 10 ml di sodio acetato tampone a pH 5,5, 1,67 ml di tetrametilbenzidina soluzione e 20 µl di idrogeno perossido soluzione concentrata R.
- *Soluzione di lavaggio.* Acqua corrente contenente 0,5 g/l di polisorbato 80 R.

Metodo

Bloccare le piastre di microtitolazione introducendo in ciascun pozzetto 150 µl di tampone di bloccaggio. Coprire le piastre con un coperchio o con una pellicola di plastica. Incubare in atmosfera umida a 37 °C per 1h. Lavare accuratamente le piastre con la soluzione di lavaggio. Introdurre 100 µl di soluzione PBS in ciascun pozzetto. Introdurre 100 µl di anatossina tetanica di cavia di riferimento nel primo pozzetto di una linea. Introdurre 100 µl del siero in esame non diluito nel primo pozzetto del numero richiesto di linee. Con l'ausilio di una micropipetta multicanale, effettuare diluizioni 1:2 in serie attraverso la piastra (fino alla colonna 10) trasferendo 100 µl da un pozzetto in quello successivo. Eliminare 100 µl dall'ultima colonna in modo che tutti i pozzetti contengano 100 µl. Preparare una soluzione 0,1 Lf/ml di tossina o di anatossina tetanica utilizzando la soluzione PBS come diluente. Aggiungere 40 µl di soluzione PBS a tutti i pozzetti ad eccezione dei pozzetti della colonna 12 (controllo negativo). Agitare dolcemente le piastre e coprirle con un coperchio. Ricoprire le piastre ELISA: immediatamente prima dell'uso, effettuare una diluizione appropriata di IgG antitetanica equina in tampone carbonato a pH 9,6 ed aggiungere 100 µl di questa soluzione in tutti i pozzetti. Incubare le 2 serie di piastre per l'intera notte

in atmosfera umida a 37 °C. Per evitare effetti di gradiente di temperatura, non sovrapporre più di 4 piastre l'una sull'altra. Coprire le piastre con i coperchi. Nel giorno successivo, lavare accuratamente le piastre ELISA con la soluzione di lavaggio. Bloccare le piastre introducendo in ciascun pozzetto 125 µl di tampone di bloccaggio. Incubare a 37 °C in atmosfera umida per 1h. Lavare accuratamente le piastre con la soluzione di lavaggio. Trasferire 100 µl della miscela di pre-incubazione dalle piastre di polistirene nei corrispondenti pozzetti delle piastre ELISA, cominciando dalla colonna 12 e poi continuando dalla colonna 1 fino alla colonna 11. Coprire le piastre con un coperchio. Incubare a 37 °C in atmosfera umida per 2 h. Lavare accuratamente le piastre ELISA con la soluzione di lavaggio. Effettuare una diluizione appropriata (una diluizione 1:4000 è stata riscontrata idonea) di IgG antitetanica equina coniugata alla perossidasi nel tampone diluente. Aggiungere 100 µl di diluizione in ciascun pozzetto e chiudere ciascuna piastra con un coperchio. Incubare a 37 °C in atmosfera umida per 1,5 h. Lavare accuratamente le piastre ELISA con la soluzione di lavaggio. Aggiungere a ciascun pozzetto 100 µl di perossidasi. Si sviluppa una colorazione blu. Incubare le piastre a temperatura ambiente. Fermare la reazione a un tempo definito (entro 10 min) aggiungendo 100 µl di *acido solforico 2 M* a ciascun pozzetto e nello stesso ordine di aggiunta del substrato. Il colore cambia dal blu al giallo. Misurare l'assorbanza a 405 nm immediatamente dopo l'aggiunta di *acido solforico* oppure mantenere le piastre al buio fino alla misura.

2.7.9. SAGGIO DELLA FUNZIONE Fc DELL'IMMUNOGLOBULINA

Sangue umano stabilizzato. Prelevare sangue umano di gruppo 0 e raccoglierlo su una soluzione anticoagulante ACD. Conservare il sangue stabilizzato a 4 °C per non più di tre settimane.

Tampone fosfato soluzione salina a pH 7,2. Disciogliere 1,022 g di *sodio fosfato dibasico anidro R*, 0,336 g di *sodio fosfato monobasico anidro R* e 8,766 g di *sodio cloruro R* in 800 ml di *acqua R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Soluzione madre di calcio e magnesio. Disciogliere 1,103 g di *calcio cloruro R* e 5,083 g di *magnesio cloruro R* in *acqua R* e diluire a 25 ml con lo stesso solvente.

Tampone barbital soluzione madre. Disciogliere 207,5 g di *sodio cloruro R* e 25,48 g di *barbital sodico R* in 4000 ml di *acqua R* ed aggiustare a pH 7,3 utilizzando *acido cloridrico 1 M*. Aggiungere 12,5 ml della soluzione madre di calcio e magnesio e diluire a 5000 ml con

acqua R. Filtrare attraverso una membrana (dimensione dei pori 0,22 µm) e conservare a 4 °C in recipienti di vetro.

Tampone albumina-barbital soluzione. Disciogliere 0,150 g di *albumina bovina R* in 20 ml della soluzione madre di tampone barbital e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Acido tannico soluzione. Disciogliere 10 mg di *acido tannico R* in 100 ml di tampone fosfato soluzione salina a pH 7,2. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Complemento di cavia. Preparare una miscela di siero di cavia, ottenuto dal sangue di almeno dieci cavie. Separare il siero dal coagulo mediante centrifugazione a circa 4 °C. Conservare il siero in piccole quantità ad una temperatura inferiore a -70 °C. Immediatamente prima l'inizio dell'emolisi indotta dal complemento, diluire a 125-200 CH₅₀ per millilitro con il tampone albumina-barbital soluzione e conservare in bagno di ghiaccio durante il saggio.

Antigene della rosolia. Antigene della rosolia appropriato per il titolo di inibizione dell'emoagglutinazione (HIT). Titolo > 256 unità emoagglutinanti (HA).

Preparazione di globuli rossi umani tannati. Separare i globuli rossi centrifugando un volume appropriato di sangue umano stabilizzato e lavare le cellule almeno tre volte con il tampone fosfato soluzione salina a pH 7,2 e sospendere poi al 2 per cento V/V nel tampone fosfato soluzione salina a pH 7,2. Diluire 0,1 ml di *acido tannico soluzione* a 7,5 ml con il tampone fosfato soluzione salina a pH 7,2 (concentrazione finale 1,3 mg/l). Mescolare 1 volume della soluzione, preparata di recente, con 1 volume di sospensione di globuli rossi umani ed incubare a 37 °C per 10 min. Raccogliere le cellule mediante centrifugazione (400-800 g per 10 min), eliminare il sopranatante e lavare le cellule una volta con il tampone fosfato soluzione salina a pH 7,2. Sospendere di nuovo le cellule tannate all'1 per cento V/V nel tampone fosfato soluzione salina a pH 7,2.

Coniugazione dell'antigene ai globuli rossi umani tannati. Usare un volume adeguato (V_s) di cellule tannate, aggiungere 0,2 ml di antigene della rosolia per 1,0 ml di cellule tannate ed incubare a b.m. a 37 °C per 30 min. Raccogliere le cellule mediante centrifugazione (400-800 g per 10 min) ed eliminare il sopranatante lasciando un volume di 200 µl. Aggiungere un volume di tampone albumina-barbital soluzione, equivalente al volume del sopranatante eliminato, sospendere di nuovo le cellule e raccoglierle come descritto prima e ripetere la procedura di lavaggio. Portare i rimanenti 200 µl a tre quarti del volume V_s ottenendo così il volume iniziale (V_i). Mescolare 900 µl di tampone albumina-barbital soluzione con 100 µl di V_i che è quindi ridotto al volume residuo (V_r) e determinare l'assor-

banza iniziale a 541 nm (A). Diluire V_r di un fattore uguale ad A usando il tampone albumina-barbital soluzione, ottenendo così il volume finale aggiustato $V_f = V_r \times A$ di globuli rossi umani sensibilizzati ed aggiustando A a $1,0 \pm 0,1$ per una diluizione 1:10.

Legame dell'anticorpo ai globuli rossi umani tannati sensibilizzati con l'antigene. Preparare le seguenti soluzioni in successione e in doppio, utilizzando per ciascuna soluzione una distinta semi-micro-cuvetta (ad es. del tipo monouso) o una provetta:

- (1) *Soluzioni in esame.* Se necessario, aggiustare l'immunoglobulina da esaminare a pH 7, per es. mediante aggiunta di *sodio idrossido 1 M*. Diluire volumi della preparazione da esaminare contenenti 30 mg e 40 mg di immunoglobulina con tampone albumina-barbital soluzione ed aggiustare il volume a 900 μ l.
- (2) *Soluzioni di riferimento.* Preparare come le soluzioni in esame usando *immunoglobulina umana PBR*.
- (3) *Controllo del complemento.* 900 μ l di tampone albumina-barbital soluzione.

Aggiungere ad ogni cuvetta o provetta 100 μ l di globuli rossi umani sensibilizzati e mescolare bene.

Incubare per 15 min a temperatura ambiente, aggiungere 1000 μ l di tampone albumina-barbital soluzione, raccogliere le cellule mediante centrifugazione delle cuvette o delle provette (1000 g per 10 min) ed eliminare 1900 μ l di soprannatante. Ripristinare i 1900 μ l con il tampone albumina-barbital soluzione ripetendo l'intero procedimento di lavaggio e lasciando alla fine un volume di 200 μ l. I campioni in esame possono essere conservati in cuvette o provette sigillate a 4 °C per 24 h.

Emolisi indotta dal complemento. Per misurare l'emolisi, aggiungere ad ogni campione in esame 600 μ l di tampone albumina-barbital soluzione riscaldata a 37 °C, sospendere di nuovo le cellule pipettando ripetutamente (almeno cinque volte) e porre la cuvetta nell'apposito supporto termostato di uno spettrofotometro. Dopo 2 min aggiungere 200 μ l di complemento di cavia diluito (125-200 CH₅₀/ml), mescolare accuratamente pipettando due volte e, immediatamente dopo il secondo pipettamento, iniziare la registrazione dell'assorbanza in funzione del tempo, a 541 nm, usando il tampone albumina-barbital soluzione come liquido di compensazione. Interrompere la misura se l'assorbanza in funzione del tempo ha superato nettamente il punto di flesso.

Valutazione. Determinare la pendenza (S) della curva di emolisi all'incirca al punto di flesso, dividendo la parte più ripida della curva in intervalli di tempo Δ_t appropriati (per es. $\Delta_t = 1$ min) e calcolare S tra i punti di

intersezione adiacenti, espressi come ΔA per minuto. Il valore più grande di S serve come (S_{exp}). Inoltre determinare l'assorbanza all'inizio della misura (A_s) mediante estrapolazione della curva, che è pressoché lineare e parallela all'asse del tempo nei primi minuti. Correggere (S_{exp}) mediante l'espressione:

$$S' = \frac{S_{exp}}{A_s}$$

Calcolare la media aritmetica dei valori di S' per ciascuna preparazione. Calcolare l'indice della funzione Fc (I_{Fc}) mediante l'espressione:

$$I_{Fc} = \frac{100 \times (\overline{S'} - \overline{S'_c})}{\overline{S'_s} - \overline{S'_c}}$$

$\overline{S'}$ = media aritmetica della pendenza corretta per la preparazione da esaminare;

$\overline{S'_s}$ = media aritmetica della pendenza corretta per la preparazione di riferimento;

$\overline{S'_c}$ = media aritmetica della pendenza corretta per il complemento di controllo.

Calcolare l'indice della funzione Fc della preparazione da esaminare: il valore non è inferiore a quello indicato nel foglietto allegato alla preparazione di riferimento.

2.7.10. DOSAGGIO DEL FATTORE VII DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE UMANO

Il fattore VII della coagulazione è dosato misurando la sua attività biologica come complesso fattore VIIa-fattore tissutale nell'attivazione del fattore X, in presenza di ioni calcio e di fosfolipidi. L'attività biologica di una preparazione di fattore VII viene valutata confrontando la quantità necessaria per ottenere la formazione di una determinata aliquota di fattore Xa in una miscela di reazione contenente le sostanze che intervengono nell'attivazione del fattore X, con la quantità dello Standard Internazionale, o con una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali, necessaria per produrre la formazione della stessa quantità di fattore Xa.

L'Unità Internazionale è l'attività del fattore VII di una determinata quantità dello Standard Internazionale che è costituito da plasma liofilizzato. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Il *concentrato del fattore VII della coagulazione del sangue umano PBR* è titolato in Unità Internazionali per confronto con lo Standard Internazionale.

Il metodo del dosaggio cromogeno consiste di due fasi successive: l'attivazione del fattore X, sotto l'azione del fattore VII, in una miscela di reazione contenente il

fattore tissutale, fosfolipidi e ioni calcio seguita dalla scissione enzimatica di un substrato cromogeno del fattore Xa, con liberazione di un cromoforo che può essere quantificato per via spettrofotometrica. In condizioni appropriate di dosaggio, esiste una relazione lineare tra la velocità di formazione del fattore Xa e la concentrazione del fattore VII. Il dosaggio viene riassunto nello schema seguente:

Fase 1

a) fattore VII $\xrightarrow{\text{fattore tissutale, Ca}^{++}}$ fattore VIIa

b) fattore X $\xrightarrow[\text{fattore tissutale/fosfolipidi}]{\text{fattore VIIa, Ca}^{++}}$ fattore Xa

Fase 2

substrato cromogeno $\xrightarrow{\text{fattore Xa}}$ peptide + cromoforo

Le due fasi richiedono reattivi disponibili in commercio da diversi fornitori. Anche se la composizione dei singoli reattivi può subire alcune variazioni le loro caratteristiche essenziali sono descritte nelle specifiche che seguono.

REATTIVI

Il reattivo del fattore della coagulazione è costituito da proteine purificate di origine umana o bovina. Queste comprendono il fattore X e il fattore tissutale tromboplastina/fosfolipide come attivatore del fattore VII. Queste proteine sono parzialmente purificate e non contengono impurezze che interferiscono con l'attivazione del fattore VII o del fattore X. Il fattore X è presente in quantità tali da dare una concentrazione finale, durante la prima fase del dosaggio, di 10-350 nmol per litro e preferibilmente di 14-70 nmol per litro. Possono essere usate la tromboplastina di origine naturale (cervello bovino o di coniglio) o preparazioni sintetiche come il componente fattore tissutale/fosfolipide. La tromboplastina adatta per la determinazione del tempo di protrombina viene diluita 1:5-1:50 in tampone in modo che la concentrazione finale di Ca^{++} sia 15-25 mmol/litro. La formazione finale del fattore Xa viene eseguita in una soluzione contenente albumina umana o bovina ad una concentrazione tale che non si verifichi una diminuzione di assorbimento e che sia opportunamente tamponata a pH 7,3-8,0. Nella miscela finale di incubazione il fattore VII deve essere il solo componente limitante la velocità e ciascun componente del reattivo non deve avere una propria capacità di generare il fattore Xa.

La seconda fase della reazione consiste nella quantificazione del fattore Xa formato per mezzo di un sub-

strato cromogeno specifico per il fattore Xa. Generalmente esso è costituito da un corto peptide derivatizzato di 3-5 amminoacidi, legato ad un gruppo cromoforo. La scissione di questo gruppo dal substrato peptidico sposta il massimo di assorbimento verso una lunghezza d'onda che permette la sua quantificazione spettrofotometrica. Il substrato si discioglie generalmente in *acqua R* e si utilizza ad una concentrazione finale di 0,2-2 mmol per litro. Il substrato può inoltre contenere appropriati inibitori che bloccano l'ulteriore formazione del fattore Xa (aggiunta di edetato).

PROCEDURA DI DOSAGGIO

Ricostituire l'intero contenuto di una fiala della preparazione di riferimento e della preparazione in esame aggiungendo un'appropriata quantità di *acqua R* ed usare entro 1 h. Aggiungere alle preparazioni ricostituite una quantità sufficiente di prediluyente in modo da ottenere soluzioni contenenti 0,5-2,0 Unità Internazionali di fattore VII per millilitro.

Preparare ulteriori diluizioni della preparazione di riferimento e della preparazione in esame usando un tampone isotonic non chelante contenente l'1 per cento di albumina umana o bovina tamponato preferibilmente a pH 7,3-8,0. Per ciascun materiale, preparare almeno tre diluizioni separate ed indipendenti preferibilmente in doppio. Preparare le diluizioni in modo che la concentrazione finale del fattore VII sia inferiore a 0,005 U.I. per millilitro.

Preparare una soluzione di controllo che include tutti i componenti eccetto il fattore VII.

Preparare tutte le diluizioni in provette di plastica ed usarle entro 1 h.

Fase 1. Mescolare le diluizioni della preparazione di riferimento del fattore VII e della preparazione da esaminare con un volume appropriato di reattivo del fattore della coagulazione preriscaldato o una combinazione dei suoi costituenti separati ed incubare la miscela a 37 °C in provette di plastica o in pozzetti in micropiastra. La concentrazione dei diversi componenti durante la formazione del fattore Xa deve essere come specificato precedentemente nella sezione sulla descrizione dei reattivi. Lasciare procedere la reazione di attivazione del fattore X per un tempo appropriato, arrestando generalmente la reazione prima che la concentrazione del fattore Xa abbia raggiunto il suo massimo livello al fine di ottenere una soddisfacente relazione lineare dose-risposta. Il tempo di attivazione è scelto anche per ottenere una formazione di fattore Xa lineare nel tempo. Tempi di attivazione appropriati sono generalmente compresi tra 2 min e 5 min, ma sono ammesse variazioni per migliorare la linearità della relazione dose-risposta.

Fase 2. Arrestare la reazione di attivazione mediante aggiunta del reattivo precedentemente riscaldato contenente il substrato cromogeno. Quantificare la velocità di scissione del substrato, che deve essere proporzionale alla concentrazione del fattore Xa formato, misurando allo spettrofotometro la variazione di assorbanza ad una lunghezza d'onda appropriata; l'assorbanza può essere misurata in continuo, in modo che sia possibile calcolare la velocità iniziale di scissione del substrato, sia interrompendo la reazione di idrolisi dopo un appropriato intervallo, abbassando il pH mediante aggiunta di un reattivo adatto, come acido acetico (500 g/l C₂H₄O₂) o una soluzione di citrato a pH 3 (1 mole per litro). Aggiustare il tempo di idrolisi in modo da ottenere uno sviluppo del cromoforo lineare nel tempo. Tempi di idrolisi appropriati sono generalmente compresi tra 3 min e 15 min, ma sono ammesse variazioni se queste permettono di ottenere una migliore linearità nella relazione dose-risposta.

Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività biologica della preparazione in esame mediante metodi statistici usuali (per esempio 5.3.).

2.7.11. DOSAGGIO DEL FATTORE IX DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE UMANO

Il principio di questo dosaggio si basa sulla misura della capacità di una preparazione di fattore IX di ridurre il tempo di coagulazione prolungata di plasma carente del fattore IX. La reazione è accelerata per aggiunta di un reattivo contenente dei fosfolipidi ed un attivatore di contatto come il caolino, la silice o l'acido ellagico. L'attività è valutata confrontando la curva dose-risposta ottenuta con la preparazione in esame con quella ottenuta con una preparazione di riferimento titolata in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale è l'attività del fattore IX corrispondente all'attività di una determinata quantità dello Standard Internazionale che è costituito da un concentrato liofilizzato del fattore IX della coagulazione del sangue umano. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Il *concentrato del fattore IX di coagulazione del sangue umano PBR* è titolato in Unità Internazionali per confronto con lo Standard Internazionale.

Ricostituire separatamente la preparazione da esaminare e la preparazione di riferimento come indicato in etichetta ed usarle immediatamente. Se la preparazione in esame contiene eparina, determinare la quantità pre-

sente (2.7.12) e neutralizzarla aggiungendo *protamina solfato R* (10 µg di protamina solfato neutralizzano 1 U.I. di eparina). Diluire la preparazione da esaminare e la preparazione di riferimento con plasma carente in fattore IX (per esempio *plasma substrato R2*) in modo da ottenere soluzioni contenenti 0,5-2,0 U.I./ml. Preparare con una soluzione tampone appropriata, (per esempio *tampone imidazolo soluzione a pH 7,3 R*) contenente 10 g/l di albumina bovina o umana, almeno 3 serie di diluizioni appropriate, preferibilmente in doppio, per ciascun materiale. Utilizzare queste soluzioni immediatamente.

Utilizzare un apparecchio adatto alla misura dei tempi di coagulazione oppure effettuare il dosaggio con delle provette per incubazione mantenute a bagno maria a 37 °C. Aggiungere a ciascuna provetta 0,1 ml di plasma carente di fattore IX (per esempio *plasma substrato R2*) e 0,1 ml di una delle diluizioni della preparazione di riferimento o della preparazione in esame. Aggiungere a ciascuna provetta 0,1 ml di reattivo APTT (tempo di tromboplastina parzialmente attivata) appropriato, contenente dei fosfolipidi e un attivatore di contatto, e poi incubare a 37 °C per il periodo di tempo raccomandato. Aggiungere, a ciascuna provetta, 0,1 ml di una soluzione (3,7 g/l) di *calcio cloruro R*, precedentemente scaldato a 37 °C. Usando un cronometro, misurare il tempo di coagulazione, cioè l'intervallo di tempo tra l'aggiunta del calcio cloruro e la prima indicazione della formazione di fibrina. I volumi indicati sopra possono essere adattati in funzione del reattivo APTT e dell'apparecchio utilizzati.

Calcolare l'attività biologica usando i metodi statistici usuali (vedere il capitolo 5.3, per esempio).

2.7.12. DOSAGGIO DELL'EPARINA NEI FATTORI DELLA COAGULAZIONE

L'eparina è dosata nella sua forma di complesso con l'antitrombina III (AT) attraverso la sua inibizione dell'attività del fattore Xa di coagulazione. Un eccesso di AT è mantenuto nella miscela di reazione per assicurare una concentrazione costante del complesso eparina-AT. Il fattore Xa è neutralizzato dal complesso eparina-AT e il fattore Xa residuo idrolizza uno specifico substrato peptidico cromogeno liberando un cromoforo. La quantità di cromoforo è inversamente proporzionale all'attività dell'eparina.

Substrato cromogeno per il fattore Xa. Il substrato cromogeno specifico del fattore Xa è: *N*-benzoi-L-isoleucil-L-glutamyl-glicil-L-arginina-4-nitroanilide cloridrato. Ricostituire secondo le istruzioni del fabbricante.

Tampone di diluizione. Una soluzione 6,05 g/l di *tris (idrossimetil)amminometano R*. Correggere il pH a 8,4, se necessario, usando *acido cloridrico R*.

Soluzione in esame. Diluire la preparazione da esaminare con il tampone di diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente 0,1 U.I. di eparina per millilitro.

Soluzione di riferimento. Diluire la preparazione di riferimento dell'eparina con il tampone di diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente 0,1 U.I. di eparina per millilitro.

Applicare le condizioni di lavoro riportate di seguito alla piastra di microtitolazione. Se il dosaggio è realizzato in provetta, correggere i volumi in maniera tale da mantenere le proporzioni nella miscela. Riscaldare tutte le soluzioni a 37 °C in un b.m. poco prima di effettuare il saggio.

Distribuire in una serie di pozzetti, 20 µl di plasma umano normale e 20 µl di *antitrombina III soluzione R1*. Aggiungere ai pozzetti una serie di volumi (20 µl, 60 µl, 100 µl e 140 µl) della soluzione in esame o della soluzione di riferimento e portare il volume di ciascun pozzetto a 200 µl usando il tampone di diluizione (0,02 – 0,08 U.I. di eparina per millilitro nella miscela finale di reazione).

Metodo al punto finale. Trasferire 40 µl di ciascun pozzetto in una seconda serie di pozzetti, aggiungere 20 µl di *fattore Xa bovino soluzione R* ed incubare a 37 °C per 30 s. Aggiungere 40 µl di una soluzione 1 mmol/l di substrato cromogeno per il fattore Xa ed incubare a 37 °C per 3 min. Arrestare la reazione abbassando il pH mediante aggiunta di un appropriato reattivo, come una soluzione al 20 per cento V/V di *acido acetico glaciale R* e misurare l'assorbanza a 405 nm (2.2.25). Tempi di reazione appropriati sono generalmente compresi tra 3 min e 15 min, ma certe variazioni sono tollerate se permettono di migliorare la linearità della curva dose-risposta.

Metodo cinetico. Trasferire 40 µl di ciascun pozzetto in una seconda serie di pozzetti, aggiungere 20 µl di *fattore Xa bovino soluzione R* ed incubare a 37 °C per 30 s. Aggiungere 40 µl di una soluzione di 2 mmol/l di substrato cromogeno per il fattore Xa, incubare a 37 °C e determinare la velocità di scissione del substrato misurando in continuo la variazione dell'assorbanza a 405 nm (2.2.25), permettendo così di calcolare la velocità iniziale di scissione del substrato. Questa velocità deve essere proporzionale alla concentrazione del fattore Xa residuo.

Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività dell'eparina della preparazione in esame usando i metodi statistici usuali per un modello a rapporto di pendenza (per esempio, 5.3).

2.7.13. DOSAGGIO DELL'IMMUNOGLOBULINA UMANA ANTI-D

METODO A

L'attività biologica dell'immunoglobulina umana anti-D è determinata confrontando la quantità necessaria a produrre agglutinazione dei globuli rossi D-positivi con la quantità di una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali, necessaria a produrre lo stesso effetto.

L'Unità Internazionale è l'attività di una quantità definita della Preparazione Internazionale di Riferimento. L'equivalenza in Unità Internazionali della Preparazione Internazionale di Riferimento è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

L'immunoglobulina umana anti-D PBR è titolata in Unità Internazionali in confronto allo Standard Internazionale e destinata ad essere utilizzata nel dosaggio dell'immunoglobulina umana anti-D.

Usare una miscela di globuli rossi D-positivi, aventi meno di 7 giorni e conservati opportunamente, ottenuta da almeno quattro donatori di gruppo O R₁R₁. Aggiungere ad un volume appropriato di cellule, precedentemente lavate per tre volte con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*, un volume uguale di *bromelina soluzione R*, lasciare a riposo a 37 °C per 10 min, centrifugare, eliminare il liquido soprannatante e lavare per tre volte con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Sospendere 20 volumi di globuli rossi in una miscela di 15 volumi di siero inerte, 20 volumi di una soluzione (300 g/l) di *albumina bovina R* e 45 volumi di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Lasciare la sospensione così ottenuta in acqua ghiacciata agitando continuamente.

Usando una siringa automatica tarata, preparare diluizioni appropriate della preparazione in esame e della preparazione di riferimento usando come diluente una soluzione contenente 5 g/l di *albumina bovina R* e 9 g/l di *sodio cloruro R*.

Usare un apparecchio appropriato per l'analisi automatica continua: mantenere la temperatura nel collettore, tranne che nelle serpentine di incubazione, a 15,0 °C. Pompate la sospensione di globuli rossi nel collettore dell'apparecchio ad un flusso di 0,1 ml per min ed una soluzione (3 g/l) di *metilcellulosa 450 R*

ad un flusso di 0,05 ml per min. Introdurre le diluizioni della preparazione in esame e della preparazione di riferimento ad un flusso di 0,1 ml/min per 2 min, seguite dalla soluzione diluente ad un flusso di 0,1 ml/min per 4 min prima che sia introdotta la diluizione successiva.

Introdurre aria ad un flusso di 0,6 ml per minuto. Incubare a 37 °C per 18 min e poi disperdere gli agglomerati introducendo, ad un flusso di 1,6 ml per min, una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro R contenente un appropriato agente bagnante (per esempio, polisorbato 20 R ad una concentrazione finale di 0,2 g/l) per non turbare l'erogazione dell'aria. Lasciare sedimentare l'aggiuntato e decantare per due volte, la prima a 0,4 ml per min e poi a 0,6 ml per min. Lisare i globuli rossi non agglutinati con una soluzione contenente 5 g/l di ottoxinololo 10 R, 0,2 g/l di potassio ferricianuro R, 1 g/l di sodio bicarbonato R e 0,05 g/l di potassio cianuro R ad un flusso di 2,5 ml per min. Dopo 10 min introdurre una spirale per consentire la conversione dell'emoglobina. Registrare in continuo l'assorbanza (2.2.25) dell'emolisato ad una lunghezza d'onda compresa tra 540 nm e 550 nm. Determinare l'intervallo delle concentrazioni degli anticorpi per le quali c'è una relazione lineare tra la concentrazione e il risultante cambiamento di assorbanza (ΔA). Costruire una curva di riferimento utilizzando i risultati ed usare la parte lineare della curva per determinare l'attività della preparazione in esame.

Calcolare l'attività biologica della preparazione in esame usando i metodi statistici usuali (5.3).

METODO B

L'attività biologica dell'immunoglobulina umana anti-D è determinata mediante immunoassorbimento competitivo con enzima coniugato su piastre di microtitolazione coperte di eritrociti. Il metodo è basato sul legame competitivo tra una preparazione di immunoglobulina anti-D policlonale e un anticorpo monoclonale anti-D biotinilato diretto contro un epitopo specifico dell'antigene D. L'attività della preparazione in esame è confrontata con la preparazione di riferimento titolata in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale è l'attività contenuta in una quantità definita della Preparazione Internazionale di Riferimento. L'equivalenza in Unità Internazionali della Preparazione Internazionale di Riferimento è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

L'immunoglobulina umana anti-D PBR è titolata in Unità Internazionali in confronto allo Standard Internazionale e destinata ad essere utilizzata nel dosaggio dell'immunoglobulina umana anti-D.

MATERIALI

I reattivi non specificati sono di grado analitico.

PBS (soluzione salina tamponata fosfato). Disciogliere 8,0 g di sodio cloruro R, 0,76 g di sodio fosfato dibasico anidro R, 0,2 g di potassio cloruro R, 0,2 g di potassio fosfato monobasico R e 0,2 g di sodio azide R in acqua R e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

TBS (soluzione tampone tris(idrossimetil)amminometano). Disciogliere 8,0 g di sodio cloruro R e 0,6 g di tris(idrossimetil)amminometano R in acqua R. Correggere il pH a 7,2 (2.2.3) con acido cloridrico 1M e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Papaina soluzione. Preparare una soluzione agitando 1 g di papaina R a 37 °C per 30 min in 10 ml di tampone fosfato soluzione 0,067 M a pH 5,4 R, centrifugare a 10000 g per 5 min e filtrare attraverso una membrana con una dimensione dei pori di 0,22 µm. Per attivare, mescolare 1 ml del filtrato con 1 ml di una soluzione 48,44 g/l di L-cisteina R e 1 ml di una soluzione 3,72 g/l di sodio edetato R e diluire a 10 ml con tampone fosfato soluzione 0,067 M a pH 5,4 R. Congelare in aliquote ad una temperatura uguale o inferiore a -20 °C.

Eritrociti. Usare una miscela di eritrociti D-positivi ottenuta da almeno 3 donatori di gruppo O R₂R₂. Lavare le cellule 4 volte con la soluzione PBS. Centrifugare le cellule a 1800 g per 5 min, mescolare un volume appropriato del deposito cellulare preriscaldato con un volume appropriato della soluzione di papaina preriscaldato (2 volumi a 1 volume sono stati riscontrati idonei) ed incubare a 37 °C per 10 min. Lavare le cellule 4 volte con la soluzione PBS. Conservare a 4 °C in uno stabilizzante appropriato al massimo per 1 settimana.

Brad-5 biotinilato. Usare secondo le istruzioni del fabbricante.

Reattivo avidina/streptavidina coniugate alla fosfatasi alcalina. Preferibilmente modificato in modo da combinare un'attività specifica elevata con un legame non specifico debole. Usare secondo le istruzioni del fabbricante.

Substrato soluzione. Usare para-nitrofenile fosfato secondo le istruzioni del fabbricante.

Tampone di fissazione cellulare. Disciogliere 18,02 g di glucosio R, 4,09 g di sodio cloruro R, 1,24 g di acido borico R, 10,29 g di sodio citrato R e 0,74 g di sodio ede-

tato *R* in acqua *R*. Correggere il pH a 7,2-7,3 (2.2.3) con sodio idrossido 1 *M* o con acido cloridrico 1 *M* e diluire a 1000 ml con acqua *R*. Usare direttamente dalla conservazione a 4 °C.

Glutaraldeide soluzione. Immediatamente prima dell'uso, aggiungere 90 µl di una soluzione 250 g/l di glutaraldeide *R* a 24 ml della soluzione PBS fredda.

Piastre di microtitolazione. Le piastre, che devono essere ricoperte di eritrociti, sono di polistirene con pozzetti a fondo piatto, con proprietà di superficie rese ottimali per il dosaggio di immunoassorbimento enzimatico e con alta capacità di legare le proteine. Le piastre utilizzate per preparare le diluizioni di immunoglobulina sono piastre di polistirene o di poli(vinile cloruro) con fondo a forma di U o V.

METODO

Preparare una sospensione allo 0,1 per cento (*V/V*) di eritrociti trattati con papaina nel tampone di fissazione cellulare freddo. Con una pipetta introdurre 50 µl in ciascun pozzetto della piastra di microtitolazione a fondo piatto.

Centrifugare la piastra a 350 *g* per 3 min, preferibilmente a 4 °C. Senza rimuovere il sopranatante, aggiungere dolcemente, a ciascun pozzetto, 100 µl di glutaraldeide soluzione e lasciare a riposo per 10 min.

Svuotare i pozzetti capovolgendo rapidamente la piastra e lavare con 3 porzioni di 250-300 µl di PBS. Questo può essere effettuato manualmente o usando un sistema automatizzato di lavaggio delle piastre. Effettuare il dosaggio come descritto di seguito o conservare la piastra a 4 °C dopo aver eliminato la soluzione PBS, aggiunto 100 µl di tampone di fissazione cellulare in ciascun pozzetto e sigillato i pozzetti con una pellicola di plastica. Le piastre possono essere conservate a 4 °C al massimo per 1 mese.

Soluzione in esame. Per le preparazioni liofilizzate ricostituire le preparazioni come indicato in etichetta. Preparare 4 serie indipendenti di 5 diluizioni 1:2 cominciando da 30 U.I./ml in soluzione PBS contenenti 10 g/l di albumina bovina *R*. Se necessario, correggere la diluizione iniziale in modo da ottenere delle risposte che sono comprese nella porzione lineare della curva dose-risposta.

Soluzioni di riferimento. Ricostituire la preparazione di riferimento secondo le istruzioni. Preparare 4 serie indipendenti di 5 diluizioni 1:2 iniziando con 30 U.I./ml in soluzione PBS contenente 10 g/l di albumina bovina *R*.

Usare piastre di microtitolazione con fondo a U o a V, aggiungere a ciascun pozzetto di una serie 35 µl di ciascuna diluizione della soluzione in esame o della soluzione di riferimento. A ciascun pozzetto aggiungere 35 µl di una soluzione 250 ng/ml di una soluzione di Brad-5 biotinilato.

Svuotare i pozzetti della piastra ricoperta di eritrociti capovolgendola e ponendola su carta adsorbente. Aggiungere 250 µl di soluzione PBS contenente 20 g/l di albumina bovina *R* e lasciare a temperatura ambiente per 30 min.

Svuotare i pozzetti della piastra ricoperta di eritrociti capovolgendola e deponendola su carta adsorbente e trasferire nei pozzetti 50 µl di ciascuna diluizione della soluzione in esame e della soluzione di riferimento contenente Brad-5 biotinilato. Usare 50 µl di soluzione PBS contenente 10 g/l di albumina bovina *R* come controllo negativo. Sigillare la piastra per mezzo di una pellicola di plastica ed incubare a temperatura ambiente per 1 h.

Eliminare il liquido dai pozzetti della piastra ricoperta di eritrociti e lavare per 3 volte con 250-300 µl di TBS.

Diluire il reattivo avidina/streptavidina coniugate alla fosfatasi alcalina in TBS contenente 10 g/l di albumina bovina *R* e aggiungere 50 µl a ciascun pozzetto. Incubare per 30 min a temperatura ambiente.

Eliminare il liquido dai pozzetti della piastra ricoperta di eritrociti e lavare per 3 volte con 250-300 µl di TBS.

Aggiungere 100 µl di substrato soluzione a ciascun pozzetto ed incubare a temperatura ambiente per 10 min al buio. Arrestare la reazione aggiungendo 50 µl di sodio idrossido 3 *M* a ciascun pozzetto.

Misurare l'assorbanza a 405 nm e sottrarre il valore letto per il controllo negativo. Usare i valori di assorbanza nell'intervallo lineare della curva di titolazione per determinare l'attività biologica della preparazione in esame mediante i metodi statistici usuali (5.3).

METODO C

L'attività biologica dell'immunoglobulina umana anti-D è determinata mediante citometria a flusso in piastre di microtitolazione. Il metodo è basato sul legame specifico tra immunoglobulina anti-D ed eritrociti D-positivi. L'attività della preparazione in esame è confrontata con la preparazione di riferimento titolata in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale è l'attività di una quantità definita della Preparazione Internazionale di Riferimento.

Dosaggio dell'immunoglobulina umana anti-D

L'equivalenza in Unità Internazionali della Preparazione Internazionale di Riferimento è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

L'immunoglobulina umana anti-D PBR è titolata in Unità Internazionali in confronto allo Standard Internazionale e destinata ad essere utilizzata nel dosaggio dell'immunoglobulina umana anti-D.

MATERIALI

I reattivi non specificati sono di grado analitico.

Soluzione PBS. Disciogliere 8,0 g di sodio cloruro R, 0,76 g di sodio fosfato dibasico R, 0,2 g di potassio cloruro R e 0,2 g di potassio fosfato monobasico R in acqua R e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

PBS-BSA soluzione. La soluzione PBS contenente 10,0 g/l di albumina bovina R.

Eritrociti. Utilizzare eritrociti-D positivi ottenuti da un donatore di gruppo O R₁R₁ entro 2 settimane dalla raccolta. Conservare se necessario in uno stabilizzante appropriato a 4 °C. Lavare le cellule almeno per 2 volte con PBS-BSA soluzione e preparare una sospensione contenente 1x10⁴ cellule per microlitro ma non più di 5x10⁴ cellule per microlitro nella soluzione PBS-BSA.

Usare eritrociti-D negativi ottenuti da un donatore di gruppo O rr e preparati nello stesso modo.

Anticorpo secondario. Utilizzare un frammento di anticorpo anti-IgG, coniugato ad un appropriato colorante fluorescente, specifico per le IgG umane o parti di esse. Conservare ed utilizzare in accordo con le istruzioni del fabbricante.

Piastre di microtitolazione. Usare piastre con pozzetti a fondo piatto senza trattamento di superficie per il saggio di immunoadsorbimento enzimatico.

PROCEDIMENTO

Soluzione in esame. Per le preparazioni liofilizzate, ricostituire la preparazione come indicato in etichetta. Preparare almeno 3 esemplari di almeno 3 serie di diluizioni 1:1,5 o 1:2 iniziando con una concentrazione nell'intervallo di 1,2-0,15 U.I./ml usando la soluzione PBS/BSA come diluente. Se necessario, correggere la diluizione di partenza in modo da ottenere risposte che sono comprese nella porzione lineare della curva dose-risposta.

Soluzione di riferimento. Ricostituire la preparazione di riferimento in accordo con le istruzioni del fabbricante. Preparare almeno 3 esemplari di almeno 3 serie di diluizioni 1:1,5 o 1:2 iniziando con una concentrazione nell'intervallo di 1,2-0,15 U.I./ml usando la soluzione

PBS/BSA come diluente. Se necessario, correggere la diluizione di partenza in modo da ottenere risposte che sono comprese nella porzione lineare della curva dose-risposta.

Deporre 50 µl di eritrociti D-positivi in ciascun pozzetto della piastra di microtitolazione. Aggiungere 50 µl di ciascuna diluizione della soluzione in esame o della soluzione di riferimento a ciascun pozzetto di una serie. Usare 50 µl di una soluzione PBS-BSA come controllo negativo. Deporre 50 µl di eritrociti D-negativi in 4 pozzetti della stessa piastra di microtitolazione ed aggiungere 50 µl della diluizione più bassa della preparazione in esame. Per controllare le reazioni spurie, deporre 50 µl di eritrociti D-positivi in 4 pozzetti della stessa piastra di microtitolazione ed aggiungere 50 µl di soluzione PBS-BSA. Sigillare con una pellicola di plastica ed incubare a 37 °C per 40 min.

Centrifugare le piastre a 50 g per 3 min, eliminare il sopranatante e lavare le cellule con 200-250 µl di soluzione PBS-BSA. Ripetere questa operazione per almeno una volta.

Centrifugare le piastre a 50 g per 3 min, eliminare il sopranatante ed aggiungere 50 µl dell'anticorpo secondario diluito con la soluzione PBS-BSA in modo da ottenere una concentrazione proteica appropriata. Sigillare con una pellicola di plastica ed incubare per 20 min, al riparo dalla luce e a temperatura ambiente.

Centrifugare le piastre a 50 g per 3 min, eliminare il sopranatante e lavare le cellule con 200-250 µl di soluzione PBS-BSA. Ripetere questa operazione per almeno una volta.

Centrifugare le piastre a 50 g per 3 min, sospendere di nuovo le cellule in 200-250 µl di soluzione PBS. Trasferire la sospensione cellulare in un tubo adattato all'apparecchiatura della citometria a flusso disponibile e diluire ulteriormente aggiungendo la soluzione PBS in modo da ottenere una velocità di flusso appropriata.

Procedere immediatamente con la misura della mediana dell'intensità di fluorescenza in un citometro a flusso. Registrare almeno 10000 eventi senza finestra escludendo i residui.

Usare l'intensità mediana di fluorescenza nell'intervallo lineare della curva dose-risposta per determinare l'attività biologica della preparazione da esaminare mediante i metodi statistici abituali (5.3).

2.7.14. DOSAGGIO DEL VACCINO DELL'EPATITE A

Il dosaggio del vaccino dell'epatite A è effettuato *in vivo*, confrontando la sua capacità, in condizioni definite, di indurre la formazione di specifici anticorpi nei topi con la stessa capacità di una preparazione di riferimento, oppure *in vitro*, determinando il contenuto di antigene mediante una determinazione immunochimica.

DOSAGGIO *IN VIVO*

Il saggio sul topo illustrato più avanti è riportato come esempio di un metodo che è risultato adeguato per uno specifico vaccino; possono essere utilizzati anche altri metodi convalidati.

Selezione e distribuzione degli animali per il saggio.

Utilizzare nel saggio topi sani dello stesso lotto, di circa 5 settimane di età e di un ceppo adeguato. Utilizzare animali dello stesso sesso. Distribuire gli animali in almeno sette gruppi uguali (di numero appropriato ai requisiti del saggio).

Determinazione dell'attività biologica del vaccino in esame.

Usare una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* contenente l'adiuvante a base di alluminio utilizzato per il vaccino, preparare almeno tre diluizioni del vaccino in esame e diluizioni corrispondenti della preparazione di riferimento. Attribuire una diluizione a ciascun gruppo di animali e inoculare, per via sottocutanea, non più di 1,0 ml di ciascuna diluizione ad ogni animale del gruppo a cui quella diluizione è destinata. Mantenere un gruppo di controlli non vaccinati, iniettati per via sottocutanea con lo stesso volume di diluente. Dopo 28-32 giorni anestetizzare e salassare tutti gli animali, tenendo separati i sieri dei singoli individui. Sottoporre a saggio i singoli sieri per gli anticorpi specifici contro il virus dell'epatite A con un metodo immunochimico adeguato (2.7.1).

Calcoli. Effettuare i calcoli mediante i metodi statistici usuali per un saggio con una risposta quantale (5.3. *Analisi Statistica dei risultati dei dosaggi e dei saggi biologici*).

Per il dosaggio in questione, dalla distribuzione dei livelli di reazione misurati per tutti i sieri del gruppo non vaccinato, determinare il massimo livello di reazione che può essere previsto in un animale non vaccinato. Ogni risposta negli animali vaccinati che supera questo livello è, per definizione, una sierconversione.

Effettuare una adeguata trasformazione della percentuale degli animali di ciascun gruppo che mostrano sie-

roconversione (per esempio, una trasformazione probit) e analizzare i dati secondo il modello a linee parallele usando il logaritmo della curva dose-risposta. Determinare l'attività biologica della preparazione in esame in rapporto a quella della preparazione di riferimento.

Condizioni di validità. Il saggio è valido solo se:

- per entrambi i vaccini, quello da sottoporre a saggio e la preparazione di riferimento, la DE_{50} è compresa tra la dose più piccola e quella più grande somministrata agli animali,
- l'analisi statistica non mostra deviazione significativa dalla linearità o dal parallelismo,
- i limiti fiduciali ($P = 0,95$) sono compresi tra il 33 per cento e il 300 per cento dell'attività biologica stimata.

Requisito dell'attività biologica. Il limite fiduciale superiore ($P = 0,95$) dell'attività biologica relativa stimata non è inferiore a 1,0.

DOSAGGIO *IN VITRO*

Effettuare una determinazione immunochimica (2.7.1) del contenuto di antigene con criteri di accettazione convalidati rispetto al saggio *in vivo*. I criteri di accettazione sono approvati, per una data preparazione di riferimento, dall'autorità competente sulla base dei dati di convalida.

2.7.15. DOSAGGIO DEL VACCINO DELL'EPATITE B (rDNA)

Il dosaggio del vaccino dell'epatite B (rDNA) si effettua *in vivo* confrontando, in condizioni definite, la sua capacità di indurre anticorpi specifici contro l'antigene di superficie del virus dell'epatite B (HBsAg) nei topi o nelle cavie con la stessa capacità di una preparazione di riferimento, oppure *in vitro* misurando il contenuto in antigene mediante una determinazione immunochimica.

DOSAGGIO *IN VIVO*

Selezione e distribuzione degli animali per il saggio. Utilizzare nel saggio topi sani dello stesso lotto, dell'età di circa 5 settimane. Il ceppo di topi utilizzato per questo saggio deve dare una pendenza significativa per la curva dose-risposta rispetto all'antigene; i topi con aplotipo H-2^q o H-2^d sono adatti. Sono anche adatte cavie sane ciascuna di 300-350 g (dell'età di circa 7 settimane), provenienti dallo stesso lotto. Utilizzare animali

dello stesso sesso. Distribuire gli animali in almeno 7 gruppi uguali di numero appropriato ai requisiti del dosaggio.

Determinazione dell'attività biologica del vaccino in esame. Usare una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* contenente l'adiuvante a base di alluminio utilizzato per il vaccino o un altro diluente appropriato, e preparare almeno tre diluizioni del vaccino in esame e diluizioni corrispondenti alla preparazione di riferimento. Attribuire una diluizione a ciascun gruppo di animali ed inoculare, per via intraperitoneale, non più di 1,0 ml di ciascuna diluizione ad ogni animale del gruppo al quale la diluizione è destinata. Un gruppo di animali non viene vaccinato e riceve, per via intraperitoneale, lo stesso volume di diluente. Dopo un appropriato intervallo di tempo (ad es. 4-6 settimane), anestetizzare e salassare tutti gli animali, e raccogliere, separatamente, il siero di ciascuno di essi. Sottoporre a saggio i singoli sieri per gli anticorpi specifici anti-HBsAg mediante un dosaggio immunochimico adeguato (2.7.1).

Calcoli. Effettuare i calcoli mediante i metodi statistici usuali per un dosaggio con una risposta quantale (5.3 *Analisi statistica dei risultati dei saggi biologici e dei dosaggi*).

Per il dosaggio in questione, dalla distribuzione dei livelli di reazione misurati per tutti i sieri del gruppo non vaccinato, determinare il massimo livello di reazione che può essere previsto in un animale non vaccinato. Ogni risposta negli animali vaccinati che supera questo livello è, per definizione, una sieroconversione. Effettuare una adeguata trasformazione della percentuale di animali di ciascun gruppo che mostrano sieroconversione (per esempio una trasformazione probit) e analizzare i dati secondo il modello a linee parallele usando il logaritmo della curva dose-risposta. Determinare l'attività biologica della preparazione in esame in rapporto a quella della preparazione di riferimento.

Condizioni di validità. Il saggio è valido solo se:

- per entrambi i vaccini, quello da sottoporre a saggio e quello di riferimento, la DE_{50} è compresa tra la dose più piccola e quella più grande somministrata agli animali,
- l'analisi statistica non mostra deviazione dalla linearità o dal parallelismo,
- i limiti fiduciali dell'attività biologica relativa sono compresi tra il 33 per cento e il 300 per cento dell'attività biologica stimata.

Requisito dell'attività biologica. Il limite fiduciale superiore ($P = 0,95$) dell'attività biologica relativa stimata non è inferiore a 1,0.

DOSAGGIO *IN VITRO*

Effettuare una determinazione immunochimica (2.7.1) del contenuto in antigene con criteri di accettazione convalidati rispetto al saggio *in vivo*. Il dosaggio immunoenzimatico ELISA e il dosaggio radioimmunologico (RIA), che prevede l'uso di anticorpi monoclonali specifici per gli epitopi dell'HBsAg che inducono risposta protettiva, si sono dimostrati idonei. Utilizzare un numero appropriato di diluizioni del vaccino in esame e della preparazione di riferimento e per analizzare i dati, che possono essere convertiti in maniera appropriata, usare un modello a linee parallele. In commercio sono disponibili kit per la misurazione *in vitro* dell'HBsAg ed è possibile adattare le loro procedure di saggio all'uso come un dosaggio di attività biologica *in vitro*.

I criteri di accettazione per una data preparazione di riferimento sono approvati dall'Autorità competente sulla base dei dati di convalida.

2.7.16. DOSAGGIO DEL VACCINO PERTOSSICO ACELLULARE

La capacità del vaccino di indurre la formazione di anticorpi specifici è confrontata con la stessa capacità di una preparazione di riferimento esaminata contemporaneamente; gli anticorpi sono determinati usando metodi immunochimici adatti (2.7.1) come il dosaggio immunoenzimatico ELISA. Il saggio sui topi, mostrato di seguito, usa un modello a tre punti ma, dopo convalida, per il saggio di routine può essere usato un metodo a diluizione singola.

Vaccino di riferimento. Usare come vaccino di riferimento un lotto di vaccino che si è dimostrato efficace nelle prove cliniche o un lotto rappresentativo. Per la preparazione di un lotto rappresentativo, è necessaria una stretta aderenza al processo di produzione usato per il lotto esaminato nelle prove cliniche. La stabilità del vaccino di riferimento dovrà essere documentata.

Sierimmune di riferimento. Il *Sierimmune di topo di Bordetella pertussis PBR* è adatto per essere usato come sierimmune di riferimento.

Requisiti. La capacità del vaccino di indurre anticorpi non è significativamente ($P = 0,95$) inferiore a quella del vaccino di riferimento.

Il seguente modello di saggio è riportato come esempio di un metodo che risulta soddisfacente.

Selezione e distribuzione degli animali per il saggio. Usare nel saggio topi sani (per es. ceppi CD1) dello stesso gruppo di circa 5 settimane di età. Distribuire

gli animali in 6 gruppi di numero appropriato ai requisiti del dosaggio. Usare tre diluizioni del vaccino in esame e tre diluizioni di una preparazione di riferimento e attribuire ciascuna diluizione ad un gruppo di topi. Iniettare a ciascun topo, per via intraperitoneale o per via sottocutanea, 0,5 ml della diluizione attribuita al suo gruppo.

Raccolta di campioni di siero. 4-5 settimane dopo la vaccinazione, anestetizzare e salassare i singoli topi. Conservare i sieri a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ fino al momento del saggio per il contenuto dell'anticorpo.

Determinazione dell'anticorpo. Sottoporre a saggio i singoli sieri per il contenuto di anticorpi specifici nei confronti di ciascun componente usando un metodo convalidato come il saggio ELISA mostrato di seguito.

Saggio ELISA. Ricoprire delle piastre da microtitolazione (di policlorigliacilidato di vinile o di polistirene come appropriato per l'antigene specifico) con l'antigene purificato ad una concentrazione di 100 ng per pozzetto. Dopo il lavaggio, i siti non reattivi sono bloccati mediante incubazione con una soluzione di albumina sierica bovina e poi sono lavati. Sulle piastre sono preparate diluizioni a raddoppio di sieri ottenuti dai topi immunizzati con il vaccino in esame e con il vaccino di riferimento. Dopo incubazione a $22-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 1 h, lavare le piastre. Aggiungere, in ciascun pozzetto, una soluzione appropriata di enzima anti-topo IgG coniugato e incubare a $22-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 1 h. Dopo lavaggio, aggiungere un substrato cromogeno dal quale l'enzima coniugato legato libera un cromoforo che può essere quantificato mediante la misurazione dell'assorbanza (2.2.25). Le condizioni del saggio sono stabilite in modo da ottenere una risposta lineare dell'assorbanza in funzione del contenuto di anticorpo nell'intervallo di misurazione usato e con valori di assorbanza che sono compresi nell'intervallo 0,1-2,0.

Nel saggio è usato un antisiero di riferimento di attività biologica assegnata che serve come base per il calcolo dei livelli di anticorpo nel saggio dei sieri. Nel saggio è incluso anche un controllo standardizzato del siero.

Il saggio non è valido solo se:

- il valore trovato per il siero di controllo differisce per più di 2 deviazioni standard dal valore assegnato,
- i limiti fiduciali ($P = 0,95$) sono inferiori al 50 per cento o sono superiori al 200 per cento dell'attività biologica stimata.

Calcoli. Calcolare i titoli anticorpali nel siero dei topi immunizzati con il vaccino in esame e quello di riferimento e dai dati ottenuti calcolare l'attività biologica del vaccino in esame in relazione al vaccino di riferimento, usando i metodi statistici usuali (5.3).

2.7.17. DOSAGGIO DELL'ANTITROMBINA III UMANA

Il contenuto di antitrombina III della preparazione in esame si determina confrontando, in presenza di un eccesso di eparina, la sua capacità di inattivare la trombina con quella di una preparazione di riferimento di antitrombina III umana concentrata, calibrata in Unità Internazionali. Mescolare quantità diverse della preparazione in esame con una quantità definita di trombina e determinare l'attività della trombina residua utilizzando un appropriato substrato cromogeno.

L'Unità Internazionale è l'attività di una determinata quantità dello Standard Internazionale per l'antitrombina III umana concentrata. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è indicata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Metodo. Per la preparazione in esame e per la preparazione di riferimento, preparare due serie indipendenti di 3 o 4 diluizioni nell'intervallo compreso tra 1/75 e 1/200 a partire da 1 U.I. per millilitro, utilizzando il *tampone tris-EDTA ASB soluzione a pH 8,4 R* contenente 15 U.I. di eparina per millilitro.

Riscaldare, a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 1-2 min, 200 μl di ciascuna diluizione. Aggiungere a ciascuna diluizione 200 μl di una soluzione di *trombina bovina R* contenente 2 U.I. per millilitro in *tampone tris-EDTA ASB soluzione a pH 8,4 R*. Mescolare e mantenere a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 1 min esatto. Aggiungere 500 μl di un substrato cromogeno appropriato (per esempio, D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginin-4-nitroanilide, ricostituito in *acqua R* in modo da ottenere una soluzione contenente 4 mmoli per litro ed ulteriormente diluito per il dosaggio usando *tampone tris-EDTA ASB soluzione a pH 8,4 R* privo di albumina). Misurare immediatamente la variazione dell'assorbanza (2.2.25) a 405 nm, continuando la determinazione per almeno 30 s. Calcolare l'entità di variazione dell'assorbanza ($\Delta A/\text{min}$). (Alternativamente si può usare un dosaggio al punto finale arrestando la reazione con acido acetico e misurando l'assorbanza a 405 nm).

L'entità di variazione dell'assorbanza ($\Delta A/\text{min}$) è inversamente proporzionale all'attività dell'antitrombina III.

Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività biologica della preparazione in esame mediante i metodi statistici usuali (per esempio, 5.3. *Analisi statistica dei risultati dei dosaggi e saggi biologici*).

2.7.18. DOSAGGIO DEL FATTORE II DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE UMANO

Il dosaggio del fattore II della coagulazione è effettuato dopo specifica attivazione per formare il fattore IIa. Il fattore IIa è determinato confrontando la sua attività di scissione di uno specifico substrato peptidico cromogeno con quella dello Standard Internazionale o di una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale è l'attività del fattore II di una determinata quantità dello Standard Internazionale che è costituito da un concentrato liofilizzato del fattore II della coagulazione del sangue umano. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Il metodo del dosaggio cromogeno consiste di due fasi successive: l'attivazione del fattore II, per mezzo del veleno di vipera, seguita dalla scissione enzimatica di un substrato cromogeno del fattore IIa, con liberazione di un cromoforo che può essere quantificato per via spettrofotometrica. In condizioni appropriate di dosaggio, esiste una relazione lineare tra l'attività del fattore IIa e la scissione del substrato.

REATTIVI

Attivatore specifico del fattore II ottenuto dal veleno di vipera (Ecarina). Proteina ottenuta dal veleno della vipera delle piramidi (*Echis carinatus*) che attiva specificamente il fattore II. Ricostituire la preparazione secondo le istruzioni del produttore. Conservare la preparazione ricostituita a 4 °C ed usare entro 1 mese.

Substrato cromogeno per il fattore IIa. Substrati cromogeni specifici per il fattore IIa sono: *H-D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-p-nitroanilide* dicloridrato, *p-toluensulfonil-glicil-prolil-L-arginina-p-nitroanilide*, *H-D-cicloesilglicil- α -amminobutirril-L-arginina-p-nitroanilide*, *D-cicloesilglicil-L-alanil-L-arginina-4-nitroanilide* diacetato. Ricostituire secondo le istruzioni del produttore.

Tampone di diluizione. Una soluzione contenente 6,06 g/l di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 17,53 g/l di *sodio cloruro R*, 2,79 g/l di *acido (etilendinitrilo)tetracetico R* e 1 g/l di *albumina bovina R* o *albumina umana R*. Se necessario aggiustare il pH a 8,4, usando *acido cloridrico R*.

METODO

Soluzione in esame. Diluire la preparazione in esame con il tampone di diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente 0,015 U.I. di fattore II per millilitro. Preparare almeno altre tre diluizioni nel tampone di diluizione.

Soluzione di riferimento. Diluire la preparazione di riferimento con il tampone di diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente 0,015 U.I. di fattore II per millilitro. Preparare almeno altre tre diluizioni nel tampone di diluizione.

Prima del saggio scaldare brevemente tutte le soluzioni a b.m. a 37 °C.

Le condizioni di lavoro descritte si applicano alle piastre di microtitolazione. Se il dosaggio è effettuato nelle provette i volumi vanno corretti in modo da mantenere le proporzioni della miscela.

Utilizzare una piastra di microtitolazione mantenuta a 37 °C. A ciascuna serie di pozzetti aggiungere 25 μ l di ciascuna diluizione della soluzione in esame o della soluzione di riferimento. Aggiungere, in sequenza a ciascun pozzetto, 125 μ l del tampone di diluizione, 25 μ l di ecarina ed incubare per 2 min esatti. Aggiungere a ciascun pozzetto 25 μ l di substrato cromogeno per il fattore IIa.

Effettuare in modo continuo la lettura della variazione dell'assorbanza (2.2.25) a 405 nm per un periodo di 3 min e determinare la media di questa variazione ($\Delta A/\text{min}$). Se non è possibile effettuare il controllo continuo, misurare l'assorbanza a 405 nm ad appropriati intervalli successivi, per esempio ogni 40 s. Riportare su un grafico lineare l'assorbanza in funzione del tempo e calcolare $\Delta A/\text{min}$ come pendenza della linea. Calcolare l'attività biologica della preparazione in esame dai valori $\Delta A/\text{min}$ di ciascuna diluizione dello standard e delle preparazioni in esame e verificare la validità del dosaggio mediante i metodi statistici usuali (5.3).

2.7.19. DOSAGGIO DEL FATTORE X DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE UMANO

Il dosaggio del fattore X della coagulazione è effettuato dopo la specifica attivazione per formare il fattore Xa. La concentrazione del fattore Xa è determinata confrontando la sua attività di scissione di uno specifico substrato peptidico cromogeno con quella dello Standard Internazionale o di una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale è l'attività del fattore X di una determinata quantità dello Standard Internazio-

nale che è costituito da un concentrato liofilizzato del fattore X della coagulazione del sangue umano. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Il metodo del dosaggio cromogeno consiste in due fasi successive: l'attivazione del fattore X per mezzo del veleno di vipera, seguita dalla scissione enzimatica di un substrato cromogeno per il fattore Xa, con liberazione di un cromoforo che può essere quantificato per via spettrofotometrica. In condizioni appropriate di dosaggio, esiste una relazione lineare tra l'attività del fattore Xa e la scissione del substrato.

REATTIVI

Attivatore specifico del fattore X ottenuto dal veleno della vipera di Russel (VVR). Proteina ottenuta dal veleno della vipera di Russel (*Vipera russelli*), che attiva specificamente il fattore X. Ricostituire la preparazione secondo le istruzioni del produttore. Conservare la preparazione ricostituita a 4 °C ed usare entro 1 mese.

Substrato cromogeno del fattore Xa. Substrati cromogeni specifici per il fattore Xa sono: *N- α -benzilossicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-p-nitroanilide dicloridrato*, *N-benzoil-L-isoleucil-L-glutammil-glicil-L-arginina-p-nitroanilide cloridrato*, *metansulfonil-D-leucil-glicil-L-arginina-p-nitroanilide*, *metossicarbonil-D-cicloesilalanil-glicil-L-arginina-p-nitroanilide acetato*. Ricostituire secondo le istruzioni del produttore.

Tampone di diluizione. Una soluzione contenente 3,7 g/l di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 18,0 g/l di *sodio cloruro R*, 2,1 g/l di *imidazolo R*, 0,02 g/l di *esadimetrina bromidrato R* e 1 g/l di *albumina bovina R* o *albumina umana R*. Se necessario, aggiustare il pH a 8,4 usando *acido cloridrico R*.

METODO

Soluzione in esame. Diluire la preparazione in esame con il tampone di diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente 0,18 U.I. di fattore X per millilitro. Preparare almeno altre tre diluizioni nel tampone di diluizione.

Soluzione di riferimento. Diluire la preparazione di riferimento con il tampone di diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente 0,18 U.I. di fattore X per millilitro. Preparare almeno altre tre diluizioni nel tampone di diluizione.

Prima del saggio scaldare brevemente tutte le soluzioni a b.m. a 37 °C.

Le condizioni di lavoro descritte si applicano alle piastre di microtitolazione. Se il dosaggio è effettuato nelle provette i volumi devono essere modificati in modo da mantenere le proporzioni della miscela.

Utilizzare una piastra di microtitolazione mantenuta a 37 °C, aggiungere 12,5 μ l di ciascuna diluizione della soluzione in esame o della soluzione di riferimento a ciascuna serie di pozzetti. Aggiungere, in ciascun pozzetto, 25 μ l di VVR ed incubare per 90 s esatti. Aggiungere, a ciascun pozzetto, 150 μ l di substrato cromogeno per il fattore Xa, diluito 1 a 6 con il tampone di diluizione.

Effettuare in modo continuo la lettura della variazione dell'assorbanza (2.2.25) a 405 nm in modo continuo per un periodo di 3 min, e determinare la media di questa variazione ($\Delta A/\text{min}$). Se non è possibile effettuare il controllo continuo, misurare l'assorbanza a 405 nm ad appropriati intervalli successivi, per esempio ogni 40 s. Riportare su un grafico lineare l'assorbanza in funzione del tempo e calcolare $\Delta A/\text{min}$ come pendenza della linea. Calcolare l'attività biologica della preparazione in esame dai valori $\Delta A/\text{min}$ di ciascuna diluizione dello standard e delle preparazioni in esame e verificare la validità del dosaggio mediante i metodi statistici usuali (5.3).

2.7.20. DOSAGGIO *IN VIVO* DEL VACCINO INATTIVATO DELLA POLIOMIELEITE

La capacità del vaccino di indurre la formazione di anticorpi neutralizzanti è determinata *in vivo* mediante uno dei seguenti metodi.

SAGGIO SU PULCINI O SU CAVIE

Preparare una serie appropriata di almeno tre diluizioni del vaccino in esame usando un'appropriata soluzione salina tamponata. Usare gruppi di animali costituiti da 10 pulcini dell'età di 3 settimane o da 10 cavie, ciascuna del peso di 250-350 g. Attribuire una diluizione a ciascun gruppo ed iniettare per via intramuscolare 0,5 ml di ciascuna diluizione ad ogni animale del gruppo. Salassare gli animali il quinto o il sesto giorno dopo l'iniezione e raccogliere separatamente ciascun siero. Esaminare i sieri, diluiti 1 a 4, per evidenziare la presenza di anticorpi neutralizzanti nei confronti di ciascuno dei poliovirus umani 1, 2 e 3. Mescolare 100 DICC₅₀ di virus con la diluizione del siero ed incubare a 37 °C per un periodo di tempo compreso tra 4 h e 30 min e 6 h. Mantenere a 5 ± 3 °C per 12-18 h, se necessario per la consistenza dei risultati. Inoculare le miscele nelle colture cellulari in modo da rilevare la presenza di virus non neutralizzato e leggere i risultati

fino a 7 giorni dopo l'inoculazione. Per ciascun gruppo di animali, registrare il numero di sieri che hanno anticorpi neutralizzanti e calcolare la diluizione del vaccino che dà una risposta anticorpale nel 50 per cento degli animali. Effettuare un saggio di controllo in parallelo utilizzando un'appropriata preparazione di riferimento.

Il vaccino soddisfa al saggio se una diluizione 1 a 100 o superiore produce una risposta anticorpale per ciascuno dei tre tipi di virus nel 50 per cento degli animali.

SAGGIO SU RATTI

Un metodo di dosaggio *in vivo* appropriato consiste in una iniezione intramuscolare negli arti posteriori di almeno 3 diluizioni del vaccino in esame e del vaccino di riferimento, utilizzando per ciascuna diluizione un gruppo di 10 ratti, di un ceppo appropriato, esenti da patogeni specifici. Spesso è necessario utilizzare 4 diluizioni per ottenere risultati validi per tutti e 3 i sierotipi. Il numero di animali per ciascun gruppo deve essere sufficiente per ottenere risultati che soddisfano i criteri di convalida; gruppi di 10 ratti sono generalmente sufficienti, ma si possono ottenere risultati validi anche con gruppi con un numero ridotto di animali. Se sono utilizzati animali di sesso diverso, i maschi e le femmine sono ripartiti in maniera uguale tra i gruppi. Un intervallo di peso degli animali di 175-250 g si è rivelato idoneo. Utilizzare un inoculo di 0,5 ml per ogni ratto. L'intervallo della dose è scelto in modo che si ottenga una risposta per tutti i 3 tipi di poliovirus. Salassare gli animali dopo 20-22 giorni. Determinare, separatamente, i titoli neutralizzanti nei confronti di tutti e 3 i poliovirus usando 100 DICC₅₀ dei ceppi Sabin come cimento, cellule VERO o Hep2 come indicatori e le seguenti condizioni di neutralizzazione: 3 h a 35-37 °C e poi 18 h a 2-8 °C, se necessario per la consistenza dei risultati. Dopo incubazione a 35 °C per 7 giorni effettuare la fissazione e la colorazione e poi leggere i risultati. Per un dosaggio anticorpale valido, il titolo di ciascun virus di prova deve essere compreso nell'intervallo di 10 DICC₅₀ e 1000 DICC₅₀ e il titolo degli anticorpi neutralizzanti di un siero di riferimento non deve discostarsi di più di due diluizioni dalla media geometrica del titolo del siero. L'attività biologica è calcolata confrontando la proporzione di animali che presentano una risposta positiva al vaccino in esame e al vaccino di riferimento mediante un metodo probit o, dopo convalida, mediante un modello a linee parallele. Per il metodo probit si deve stabilire un titolo soglia di anticorpi neutralizzanti per ciascun tipo di poliovirus al fine di defi-

nire una risposta positiva. A causa della variazione tra laboratori, non è possibile definire valori soglia che possano essere applicati a tutti i laboratori. Quindi i valori soglia sono determinati per ciascun laboratorio sulla base di un minimo di tre serie di saggi con il vaccino di riferimento. Usare come valore soglia il punto mediano di una scala in log₂, tra i titoli minimi e massimi, espressi come media geometrica, della serie di tre o più saggi. Per ciascuno dei tre tipi di poliovirus, l'attività biologica del vaccino non deve essere significativamente inferiore a quella della preparazione di riferimento. Il saggio è valido solo se:

- per il vaccino in esame e il vaccino di riferimento la DE₅₀ è compresa tra la dose più piccola e la dose più grande somministrata agli animali,
- l'analisi statistica mostra una deviazione non significativa rispetto alla linearità o al parallelismo,
- i limiti fiduciali ($P = 0,95$) sono compresi tra il 25 per cento e il 400 per cento dell'attività biologica calcolata.

La seguente sezione è pubblicata per informazione

LINEA GUIDA PER LA DEROGA AL DOSAGGIO *IN VIVO* DEL VACCINO INATTIVATO DELLA POLIOMIELITE MONOVALENTE O COMBINATO

*Questa linea guida si applica ai vaccini derivati da ceppi selvaggi del virus della poliomielite. La convalida descritta dovrà essere effettuata per ciascun prodotto prima della deroga al dosaggio *in vivo* e dovrebbe essere ripetuta se si effettua un cambiamento sostanziale del processo di produzione che può influenzare il dosaggio *in vivo* o *in vitro*.*

La Convenzione Europea per la protezione degli animali vertebrati utilizzati per scopo sperimentale o per altri fini scientifici, richiede che i saggi sugli animali non siano effettuati se è disponibile un'alternativa scientificamente ragionevole e praticabile. Lo scopo di questa linea guida quindi è di promuovere la deroga al dosaggio *in vivo* se per un dato prodotto può essere dimostrato che il dosaggio *in vitro* (determinazione dell'antigene D) fornisce un'assicurazione sufficiente di un'attività soddisfacente per il controllo di routine dei lotti.

Per il dosaggio *in vivo* il saggio su ratti è considerato il metodo di scelta. Per i vaccini per i quali il dosaggio dell'attività è effettuato usando i pulcini o le cavie e per i quali è disponibile e documentata la storia della produzione, si può derogare al dosaggio dell'attività *in*

vivo, se il dosaggio sui ratti è anche applicato ai lotti compresi nello studio di convalida descritto di seguito. Per i vaccini non ancora approvati i risultati del dosaggio sui ratti su tutti i lotti finali dovrebbero essere compresi in tutti i dati generati per dimostrare la consistenza della produzione prima di poter derogare al dosaggio dell'attività *in vivo*.

Una volta ottenuta la deroga al dosaggio dell'attività *in vivo*, i lotti di vaccini saranno rilasciati in base alla titolazione dell'attività *in vitro* e il dosaggio *in vivo* non potrà essere utilizzato come alternativa al rilascio di un lotto che non soddisfa al dosaggio *in vitro*. La ripetizione del dosaggio dell'attività *in vitro* può essere effettuata in conformità ad una procedura autorizzata.

PROCEDURA

Le condizioni riportate di seguito devono essere soddisfatte prima di procedere allo studio di convalida:

- esperienza appropriata del saggio sui ratti,
- convalida completa del dosaggio dell'antigene D (linearità, ripetibilità, precisione intermedia, precisione e limiti di quantificazione),
- definizione dei criteri di accettazione per il dosaggio dell'antigene D basata su un numero appropriato di lotti consecutivi,
- definizione della consistenza della produzione di lotti finali recenti utilizzando il dosaggio *in vivo* approvato in vigore; i lotti finali dovrebbero corrispondere ai lotti finali utilizzati per stabilire i criteri di accettazione per il dosaggio dell'antigene D e dovrebbero rappresentare raccolte inattivate differenti di ciascuno dei 3 tipi di poliovirus.

Lo studio di convalida dovrebbe essere eseguito su:

- un lotto finale che sia rappresentativo del metodo di produzione utilizzato al momento,
- 2 lotti, l'attività dei quali è stata attenuata, per esempio, scaldando il vaccino normale o mescolandolo con un vaccino che ha subito un trattamento termico; i titoli previsti di lotti ad attività attenuata dovrebbero essere pari a metà circa di quello del lotto finale.

La determinazione dell'attività di questi lotti è effettuata usando come preparazione di riferimento un lotto di produzione omologo:

- mediante il dosaggio dell'attività *in vivo* approvato in vigore per il vaccino,

- mediante il dosaggio sui ratti, dove questo non è il dosaggio dell'attività *in vivo* approvato in vigore,
- mediante il dosaggio dell'antigene D.

La deroga al dosaggio dell'attività *in vivo* è accettabile se il lotto finale rappresentativo soddisfa ai dosaggi dell'attività *in vivo* e *in vitro* e se i lotti ad attività attenuata non soddisfano a questi. Se un lotto ad attività attenuata non soddisfa al dosaggio dell'antigene D ma soddisfa al dosaggio *in vivo*, quest'ultimo può essere ripetuto.

2.7.21. DOSAGGIO DEL FATTORE DI VON WILLEBRAND UMANO

Le funzioni biologiche del fattore di von Willebrand umano sono molteplici. Attualmente per il dosaggio possono essere utilizzate la sua attività di cofattore della ristocetina e la sua capacità di legarsi al collagene. L'attività biologica del fattore di von Willebrand è determinata confrontando, in condizioni definite, la sua attività con la stessa attività di una preparazione di riferimento titolata rispetto allo Standard Internazionale, se del caso in Unità Internazionali.

L'Unità Internazionale corrisponde all'attività di una quantità determinata dello Standard Internazionale che è costituito da un concentrato del fattore di von Willebrand umano liofilizzato. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS).

DOSAGGIO DEL COFATTORE DELLA RISTOCETINA

L'attività di cofattore della ristocetina del fattore di von Willebrand è determinata misurando l'agglutinazione di una sospensione di piastrine in presenza di ristocetina A. Il dosaggio può essere effettuato per le determinazioni quantitative mediante strumenti automatizzati, o per le determinazioni semi-quantitative mediante valutazione visiva del punto finale di agglutinazione in una serie di diluizioni. Il dosaggio quantitativo è preferibile.

REATTIVI

Sospensioni di piastrine. Utilizzare una preparazione titolata di piastrine umane isolate e lavate di recente, fissata per esempio con formaldeide o paraformaldeide. La sospensione può essere anche liofilizzata. Se necessario può essere aggiunta un'appropriata quantità di ristocetina A. Alcuni reattivi piastrinici possono contenere già ristocetina A.

Dosaggio del fattore di von Willebrand umano

Preparazione di riferimento. La preparazione di riferimento per il fattore di von Willebrand è lo Standard Internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per il concentrato del fattore di von Willebrand.

METODO

Dosaggio semi-quantitativo. Preparare diluizioni appropriate della preparazione da esaminare e della preparazione di riferimento, usando come diluente una soluzione contenente 9 g/l di *sodio cloruro R* e 5-10 g/l di *albumina umana R*. Aggiungere a ciascuna diluizione una quantità appropriata della sospensione di piastrine e, se necessario, di ristocetina A. Mescolare dolcemente in senso circolare per 1 min su una lastra di vetro.

Lasciare a riposo per un altro minuto e leggere il risultato su fondo scuro con illuminazione laterale. L'ultima diluizione che presenta una agglutinazione nettamente visibile indica il titolo del campione in termini di attività di cofattore della ristocetina. Utilizzare il diluente come controllo negativo.

Dosaggio quantitativo. Ricostituire immediatamente prima dell'uso l'intero contenuto di una fiala della preparazione di riferimento e della preparazione da esaminare aggiungendo la quantità appropriata del diluente raccomandato (per esempio *acqua R*). Aggiungere alle preparazioni ricostituite la quantità di prediluente necessaria in modo da ottenere soluzioni con concentrazioni di 0,5 - 2,0 U.I./ml. Il prediluente è costituito da una soluzione tampone isotonica senza chelante contenente, per esempio, l'1-5 per cento di albumina umana o bovina alla quale è aggiunto tris(idrossimetil)aminometano o imidazolo, appropriatamente tamponati.

Effettuare il saggio in accordo con le istruzioni del fabbricante preparando almeno 2 serie costituite da un numero di diluizioni opportuno per ottenere un totale di almeno tre differenti concentrazioni nell'intervallo di linearità.

Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività biologica della preparazione in esame usando i metodi statistici usuali (per esempio, 5.3).

DOSAGGIO DELLE CAPACITA' DI LEGAME AL COLLAGENE

La capacità di legame al collagene è determinata mediante immunoassorbimento a un enzima coniugato su piastre di microtitolazione rivestite di collagene. Il metodo è basato sulla specifica capacità di legame del fattore di von Willebrand alle fibre di collagene. Dopo il legame specifico, la rivelazione è effettuata mediante un anticorpo policlonale anti-fattore von Willebrand

coniugato ad un enzima che, in presenza di un substrato cromogeno, fornisce un prodotto determinabile in maniera quantitativa mediante spettrofotometria. In condizioni operative appropriate, esiste una relazione lineare tra l'attività di legame del fattore di von Willebrand al collagene e l'assorbanza.

REATTIVI

Collagene. Utilizzare fibre di collagene nativo, umano o equino, di tipo I o III. Per facilitare le manipolazioni può essere utilizzato del collagene in soluzione.

Diluente del collagene. Disciogliere 50 g di *glucosio R* in *acqua R*, portare a pH 2,7-2,9 con *acido cloridrico 1 M* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Soluzione salina tamponata con fosfato (PBS). Disciogliere 8,0 g di *sodio cloruro R*, 1,05 g di *sodio fosfato dibasico diidrato R*, 0,2 g *sodio fosfato monobasico R* e 0,2 g di *potassio cloruro R* in *acqua R*. Portare a pH 7,2 con *sodio idrossido 1 M* o con *acido cloridrico 1 M* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Tampone di lavaggio. La soluzione PBS contenente 1 g/l di *polisorbato 20 R*.

Reattivo di bloccaggio. La soluzione PBS contenente 1 g/l di *polisorbato 20 R* e 10 g/l di *albumina bovina R*.

Tampone di diluizione. La soluzione PBS contenente 1 g/l di *polisorbato 20 R* e 50 g/l di *albumina bovina R*.

Coniugato. Siero di coniglio anti-fattore di von Willebrand umano coniugato alla perossidasi di rafano. Utilizzare il coniugato seguendo le indicazioni del fabbricante.

Soluzione del substrato. Immediatamente prima dell'uso disciogliere una compressa di *o*-fenilendiammina dicloridrato e una compressa di urea idrogeno perossido in 20 ml di *acqua R* oppure utilizzare un volume appropriato di idrogeno perossido. Mantenere al riparo dalla luce.

Piastre da microtitolazione. Piastre di polistirene con pozzetti a fondo piatto che presentano delle proprietà di superficie rese ottimali per i dosaggi immunologici enzimatici ed un'elevata capacità di legame alle proteine.

METODO

Soluzione in esame. Ricostituire la preparazione in esame come indicato in etichetta, poi diluire con il tampone di diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente circa 1 U.I. di fattore di von Willebrand. Preparare 2 serie di almeno altre 3 diluizioni usando il tampone di diluizione.

Soluzione di riferimento. Ricostituire la preparazione di riferimento come indicato, poi diluire con il tampone di

diluizione in modo da ottenere una soluzione contenente circa 1 U.I. di fattore di von Willebrand. Preparare 2 serie di almeno altre 3 diluizioni nel tampone di diluizione.

Lasciar riscaldare a temperatura ambiente la soluzione di collagene, poi diluirla con il diluente del collagene in modo da ottenere una soluzione contenente 30-75 µg/ml di collagene e mescolare dolcemente in modo da ottenere una sospensione uniforme di fibrille di collagene.

Trasferire con una pipetta 100 µl di sospensione in ciascun pozzetto della piastra di microtitolazione. Coprire la piastra con un film di plastica ed incubare a 37 °C per una notte. Svuotare i pozzetti capovolgendo la piastra e lasciandola sgocciolare su carta assorbente. Aggiungere 250 µl di tampone di lavaggio. Svuotare di nuovo i pozzetti capovolgendo la piastra e lasciandola sgocciolare su carta assorbente. Ripetere questa operazione per tre volte. Aggiungere in ciascun pozzetto 250 µl di reattivo di bloccaggio, coprire la piastra con un film di plastica ed incubare a 37 °C per 1 h. Svuotare i pozzetti capovolgendo la piastra e lasciandola sgocciolare su carta assorbente. Aggiungere 250 µl di tampone di lavaggio. Svuotare di nuovo i pozzetti capovolgendo la piastra e lasciandola sgocciolare su carta assorbente. Ripetere questa operazione per tre volte.

Introdurre in ciascun pozzetto 100 µl di una delle soluzioni in esame o di riferimento e 100 µl del tampone di diluizione (controllo negativo). Coprire la piastra con un film di plastica ed incubare a 37 °C per 2 h. Svuotare i pozzetti capovolgendo la piastra e lasciandola sgocciolare su carta assorbente. Aggiungere 250 µl del tampone di lavaggio. Svuotare di nuovo i pozzetti capovolgendo la piastra e lasciandola sgocciolare su carta assorbente. Ripetere questa operazione per tre volte.

Preparare una diluizione appropriata del coniugato (per esempio 1/4000) nella soluzione PBS contenente 5 g/l di *albumina bovina R* ed aggiungere in ciascun pozzetto 100 µl di questa diluizione. Coprire la piastra con un film di plastica ed incubare a 37 °C per 2 h. Svuotare i pozzetti capovolgendo la piastra e lasciandola sgocciolare su carta assorbente. Aggiungere 250 µl di tampone di lavaggio. Svuotare di nuovo i pozzetti come indicato. Ripetere questa operazione per tre volte.

Aggiungere in ciascun pozzetto 100 µl di soluzione del substrato ed incubare a temperatura ambiente, al buio per 20 min. Aggiungere in ciascun pozzetto 100 µl di *acido cloridrico 1 M*.

Misurare l'assorbanza a 492 nm. Determinare l'attività della preparazione in esame con i metodi statistici usuali (per esempio 5.3) utilizzando i valori dell'assorbanza.

Il dosaggio non è valido se le assorbanze misurate per i controlli negativi sono superiori a 0,05.

2.7.22. DOSAGGIO DEL FATTORE XI DELLA COAGULAZIONE DEL SANGUE UMANO

Il principio di questo dosaggio si basa sulla misura della capacità di una preparazione di fattore XI di ridurre il tempo di coagulazione prolungato di un plasma carente del fattore XI. La reazione è accelerata per aggiunta di un reattivo contenente dei fosfolipidi e un attivatore di contatto come il caolino, la silice o l'acido ellagico. L'attività biologica è valutata confrontando la curva dose-risposta della preparazione da esaminare con quella ottenuta con una preparazione di riferimento costituita da plasma umano normale.

1 unità di fattore XI equivale all'attività di 1 ml di plasma umano normale. Il plasma umano normale è preparato miscelando unità di plasma provenienti da almeno 30 donatori e conservato ad una temperatura inferiore o uguale a -30 °C.

Ricostituire separatamente la preparazione da esaminare e la preparazione di riferimento secondo le indicazioni riportate in etichetta ed utilizzarle immediatamente. Se la preparazione da esaminare contiene eparina, determinarne la quantità (2.7.12) e neutralizzarla, per esempio, per aggiunta di *protamina solfato R* (10 µg di protamina solfato neutralizzano 1 U.I. di eparina). Diluire preliminarmente la preparazione da esaminare e la preparazione di riferimento con plasma carente di fattore XI (per esempio *plasma substrato R3*) in modo da ottenere delle soluzioni contenenti 0,5–2,0 unità/millilitro. Preparare almeno 3 serie di diluizioni appropriate per ciascuna sostanza, preferibilmente in doppio, usando un'appropriata soluzione tampone (per esempio *tampone imidazolo soluzione pH 7,3 R*) contenente 10 g/l di albumina bovina o umana. Usare queste diluizioni immediatamente.

Utilizzare un apparecchio appropriato per la misura dei tempi di coagulazione o effettuare il dosaggio con provette da incubazione mantenute a bagno-maria a 37 °C. In ciascuna provetta introdurre 0,1 ml di plasma carente di fattore XI (per esempio *plasma substrato R3*) e 0,1 ml di una delle diluizioni della preparazione da esaminare o della preparazione di riferimento. Aggiungere a ciascuna provetta 0,1 ml di reattivo APTT (tempo di tromboplastina parzialmente attivata) appropriato contenente dei fosfolipidi e un attivatore di contatto, poi incubare a 37 °C per il periodo di tempo raccomandato. Aggiungere a ciascuna provetta 0,1 ml di una soluzione (3,7 g/l) di *calcio cloruro R* scaldato precedentemente a 37 °C. Utilizzare un cronometro e misurare il tempo di coagulazione, ossia l'intervallo di tempo che separa l'aggiunta del calcio cloruro dal primo segno di formazione di fibrina. I volumi indicati

sopra possono essere adattati in funzione del reattivo APTT e dell'apparecchio utilizzato. Calcolare l'attività mediante i metodi statistici usuali (per esempio vedere il capitolo 5.3).

2.7.23. NUMERAZIONE DELLE CELLULE CD34/CD45+ NEI PRODOTTI EMATOPOIETICI

Questo capitolo descrive la marcatura immunologica e l'analisi mediante citometria a flusso (2.7.24) per determinare il numero di cellule CD34/CD45+ contenute nei prodotti ematopoietici.

La determinazione è effettuata mediante un metodo a piattaforma singola utilizzando sfere fluorescenti tarate, dopo la lisi dei globuli rossi del campione, se necessario.

Questo metodo si applica a tutti i tipi di preparazione ed al sangue totale. Tuttavia il livello di precisione raggiunto è particolarmente appropriato per le preparazioni contenenti percentuali bassissime di cellule CD34/CD45+.

Valutazione della qualità dell'innesto mediante la misura del numero di cellule CD34/CD45+

Differenti studi hanno stabilito che le cellule del midollo osseo che esprimono l'antigene di superficie CD34 (1-3 per cento) sono capaci di ricostituire una ematopoiesi multilinea a lungo termine dopo terapia mieloablativa. Cellule CD34/CD45+ si trovano anche nel circolo periferico di individui normali ma sono estremamente rare (0,01–0,1 per cento). Tuttavia le cellule CD34/CD45+ possono essere anche mobilizzate in gran numero dal midollo osseo verso la circolazione periferica mediante le citochine ematopoietiche come il fattore stimolante le colonie di granulociti e/o mediante chemioterapia.

La tecnica utilizzata per la misura del numero delle cellule CD34/CD45+ deve soddisfare i seguenti requisiti:

- sensibilità elevata, a causa della rarità delle fonti di cellule ematopoietiche;
- esattezza, per fornire risultati di pertinenza clinica;
- riproducibilità, per fornire risultati clinici affidabili;
- rapidità, per un'analisi in tempi reali.

Selezione di parametri

Il dosaggio mediante citometria a flusso utilizza degli anticorpi monoclonali, disponibili in commercio, che sono coniugati direttamente e marcati con un fluorocromo, delle procedure di routine di marcatura e di lisi del sangue totale, una strategia di finestratura (gating)

utilizzando la dispersione della luce e un'analisi di immunofluorescenza che utilizza una combinazione di anticorpi monoclonali CD45/CD34.

È possibile determinare la vitalità delle cellule CD34/CD45+ mediante una colorazione appropriata dell'acido nucleico con un colorante che non attraversa la membrana cellulare intatta (per esempio la 7-aminoactinomicina D).

Selezione degli anticorpi monoclonali

Anticorpi CD34. Utilizzare degli anticorpi CD34 di classe III che possono rivelare tutte le varianti di glicosilazione della molecola (per esempio, clone 8G12 o 581). Per permettere la rivelazione di eventi rari, utilizzare un anticorpo coniugato al fluorocromo più intenso eccitabile con un citometro a flusso a laser di argon, per esempio la ficoeritrina (PE).

Anticorpi CD45. E' necessario utilizzare anticorpi del tipo pan-CD45 che possono rivelare tutte le isoforme e tutte le glicoforiche di queste strutture. Generalmente è utilizzato un anticorpo CD45 coniugato al fluorocromo isocianato di fluoresceina (FITC) (per esempio, J33, HLe1, 2D1).

Controlli isotipici o isoclonici. E' analizzato un controllo negativo per rivelare qualsiasi segnale non specifico nella ragione della fluorescenza della ficoeritrina. Nel caso di un controllo isotipico (un anticorpo monoclonale diretto contro un antigene non di interesse dello stesso isotipo dell'anticorpo CD34 utilizzato), l'isotipo coniugato alla ficoeritrina è combinato con il complesso CD45-FITC (o PerCP). Nel caso di un controllo isoclonico, l'anticorpo monoclonale CD34 non coniugato (in eccesso) e lo stesso anticorpo coniugato alla ficoeritrina sono combinati al CD45 coniugato. Possono essere utilizzate combinazioni alternative.

Conta assoluta di CD34/CD45+

Sfere fluorescenti tarate. In funzione della tecnica utilizzata, lo standard interno è costituito da sfere tarate in sospensione oppure è direttamente introdotto dal fabbricante nei tubi associati.

Il valore della conta assoluta delle cellule CD34/CD45+ per microlitro è calcolato mediante l'espressione seguente:

$$\frac{A}{B} \times C$$

A = numero delle cellule CD34/CD45+ contate;

B = numero delle sfere fluorescenti contate;

C = concentrazione nota delle sfere fluorescenti

Strategie di finestrazione

Lo scopo della finestrazione sequenziale è di selezionare la popolazione di interesse e contemporaneamente di ridurre al minimo le interferenze dovute ai residui e alle cellule mature alle quali gli anticorpi possono legarsi in maniera non specifica. Se si utilizza un kit commerciale si deve applicare la finestrazione raccomandata dal fabbricante. Se si utilizza un dosaggio interno è preferibile applicare una delle strategie attualmente raccomandate. Una strategia di finestrazione che utilizza i parametri della dispersione della luce e la fluorescenza CD34/CD45 faciliterà una identificazione esatta e la determinazione del numero di cellule CD34/CD45+.

Numero di eventi analizzato

Analizzare un numero sufficiente di eventi al fine di mantenere una precisione accettabile, per esempio almeno 100 eventi CD34+ e almeno 60000 eventi CD45+; il numero totale di cellule contate può essere superiore se la percentuale di CD34 è inferiore o uguale allo 0,1 per cento.

Prelievo del campione

La formula ACD A (acido citrico, sodio citrato, destrosio) è l'anticoagulante utilizzato nelle procedure di aferesi. Questo anticoagulante permette di effettuare una conta leucocitaria automatizzata e una valutazione mediante citometria a flusso sullo stesso campione. L'acido edetico (EDTA) è l'anticoagulante di scelta per il campionamento del sangue periferico.

Trasporto dei campioni

Le condizioni di trasporto sono volte a garantire la sicurezza fisica e termica dei campioni.

Integrità e conservazione dei campioni

Possono essere trattati i prodotti di aferesi freschi (datati meno di 24 h), i campioni di sangue totale, del sangue di cordone ombelicale e di midollo osseo. I campioni più vecchi (datati più di 24 h) e quelli che sono stati scongelati sono marcati con un colorante che ne misura la vitalità. Alla ricezione dei campioni deve essere verificata la temperatura dell'interno dell'imballaggio.

TECNICA

Preparazione del campione

Assicurarsi che la concentrazione dei leucociti sia appropriata prima della marcatura mediante gli anticorpi monoclonali. Se necessario, diluire il campione in un terreno compatibile con il prodotto da analizzare e il sistema di lisi. Annotare il fattore di diluizione. Si raccomanda di effettuare il saggio con un controllo negativo.

Analisi mediante citometria a flusso

Auto - standardizzazione

Per l'analisi di cellule marcate con un kit disponibile in commercio i fabbricanti hanno messo a punto alcuni strumenti di qualità per la regolazione del citometro a flusso. Queste regolazioni sono dopo trasferite automaticamente nei protocolli di analisi dei campioni. Si utilizzano delle sfere fluorescenti specifiche per regolare il fotomoltiplicatore (PMT) sui valori bersaglio, e la compensazione è regolata e il sistema verificato con l'ausilio di una preparazione di riferimento.

Definizione dei parametri del sistema

- *Discriminatore/soglia*: la soglia di diffusione frontale della luce è fissata in maniera da escludere i residui (diffusione frontale bassa) dal tracciato ma non i piccoli linfociti.
- *Regolazione dell'alto voltaggio PMT*: queste regolazioni devono essere conformi all'analisi di marcatura di superficie cellulare e devono essere stabilite in seno a ciascun laboratorio in modo da poter fare una distinzione tra le popolazioni cellulari positive e negative con densità antigenica moderata. I voltaggi del PMT sono verificati e aggiustati periodicamente in conformità alle procedure di laboratorio standardizzate.
- *Compensazione*: deve essere accettabile per la sovrapposizione spettrale dei colori (per esempio, FITC/PE) riscontrata nell'analisi di marcatura della superficie cellulare. La compensazione dei colori è analizzata e aggiustata in accordo con le procedure standardizzate di laboratorio.
- *Velocità di flusso*: questa deve essere riproducibile con l'analisi di routine dei marcatori di superficie cellulare.
- *Regioni di finestrazione*: le regioni di finestrazione stabilite per i campioni CD34/CD45 devono essere mantenute inalterate per l'analisi della regione negativa.

Calcolo del numero assoluto di cellule CD34/CD45+

Il numero assoluto di cellule CD34/CD45+ è calcolato usando l'espressione seguente:

$$n \times D \times V$$

n = numero totale di cellule CD34/CD45+ per microlitro;

D = fattore di diluizione;

V = volume del prodotto da sottoporre a saggio, in microlitri.

I risultati sono riportati come percentuale di cellule CD34/CD45+ e come numero assoluto per microlitro. I risultati possono anche essere riportati come numero assoluto per chilogrammo di massa corporea del ricevente, laddove questo sia possibile.

2.7.24. CITOMETRIA A FLUSSO

La citometria a flusso consiste in un'analisi multiparametrica delle proprietà ottiche delle singole particelle in un sistema fluido.

Le cellule o le particelle in sospensione sono ripartite singolarmente in un flusso lineare (corrente), che scorre attraverso un dispositivo di rivelazione. I tessuti solidi devono essere ridotti in una sospensione di cellule singole prima dell'analisi.

Lo spettro dei parametri misurabili mediante citometria a flusso comprende il volume e la complessità morfologica delle cellule o delle strutture simil-cellulari, i pigmenti cellulari, il contenuto di DNA, il contenuto di RNA, le proteine, i marcatori di superficie, i marcatori intracellulari, l'attività enzimatica, il pH e la fluidità di membrana.

È possibile captare due parametri morfologici e uno o più segnali di fluorescenza per cellula. L'analisi multiparametrica consente di definire le popolazioni cellulari mediante il loro fenotipo.

APPARECCHIATURA

La messa a fuoco, l'ingrandimento e la scelta della sorgente luminosa sono rese ottimali per permettere la rivelazione e la misura automatica delle differenze morfologiche e dei profili di fluorescenza. L'analisi citofluorimetrica necessita dei seguenti criteri:

- la scelta della sorgente luminosa in funzione dei parametri da analizzare;
- l'aggiustamento dei parametri strumentali in funzione del tipo cellulare da analizzare (per esempio, colture cellulari, leucociti, piastrine, batteri, spermatozoi, funghi) e dell'analisi da effettuare (per esempio fenotipo, ciclo cellulare, apoptosi, citochine, fluidità di membrana, proteina fluorescente).

La citometria a flusso è caratterizzata dalla quantificazione automatizzata dei parametri fissati per un numero elevato di singole cellule durante ciascuna sessione di analisi. Per esempio, 100000 particelle o più (praticamente non c'è un limite superiore) sono analizzate una dopo l'altra, generalmente in 1 min circa. Il limite di rivelazione può essere soltanto di 100 molecole fluorescenti per cellula.

Un apparecchio di citometria a flusso è costituito da 5 elementi principali:

- un sistema fluido e una camera di scorrimento (cella di flusso);
- una sorgente luminosa;
- un sistema di rivelazione e di Conversione Analogico/Numerico (CAN);
- un sistema di amplificazione;
- un computer fornito di un software per l'analisi dei segnali.

SISTEMA FLUIDO E CAMERA DI SCORRIMENTO (CELLA DI FLUSSO)

La singola cellula è esposta alla sorgente luminosa e rivelata mediante una camera di scorrimento. Il sistema fluido trasporta l'una dietro l'altra le cellule in sospensione dalla provetta del campione al punto di intercettazione del laser. Per ottenere questo, il flusso del campione è fatto scorrere per una sottilissima linea di fluido nella camera di scorrimento (focalizzazione idrodinamica). Il fascio luminoso è focalizzato in forma ellittica, mediante due lenti confocali, nel condotto della camera di scorrimento attraverso il quale passano le cellule. Il flusso deve essere costante durante l'analisi di routine dei marcatori di superficie cellulare e deve assicurare il mantenimento di una distanza appropriata tra le cellule che permetta la conta cellulare.

SORGENTI LUMINOSE

Le sorgenti luminose comunemente utilizzate sono:

- lampade (mercurio, xenon);
- laser ad alta potenza raffreddati ad acqua (argon, kripton, laser a colorante);
- laser a bassa potenza raffreddati ad aria (argon (488 nm), elio-neon rosso (663 nm), elio-neon verde, elio-cadmio (UV));
- laser a diodo (blu, verde, rosso, violetto).

RIVELAZIONE DEL SEGNALE

Quando una particella passa attraverso il fascio luminoso, essa diffonde una parte della luce in tutte le direzioni. Se la particella presenta un marcatore fluorescente, il marcatore eccitato emette la sua propria luce (fluorescenza). Questa luce fluorescente si irradia ugualmente in tutte le direzioni.

Possono essere così generati due tipi di segnali:

- la diffusione della luce,
- l'emissione di fluorescenza.

I rivelatori della luce dell'apparecchio captano una parte di questa luce diffusa o fluorescente e producono dei segnali elettronici proporzionali alla quantità di luce raccolta.

Diffusione. Sono misurati due parametri di diffusione della luce:

- l'intensità della diffusione principalmente frontale (diffusione frontale, (*forward scatter* (FS)),
- l'intensità di diffusione a 90° rispetto alla direzione del fascio luminoso (diffusione laterale, (*side scatter* (SS)).

La diffusione frontale è in correlazione con il volume cellulare, mentre la diffusione laterale dipende dai parametri come la forma del nucleo, la quantità e il tipo di granuli citoplasmatici o ancora la rugosità della membrana ed è in correlazione con la complessità morfologica della cellula, tale che più l'intensità della diffu-

sione laterale è elevata, più la complessità cellulare è elevata. Essendo funzione delle caratteristiche morfologiche delle cellule, i segni della diffusione sono generati sempre durante l'analisi di flusso; essi sono definiti come parametri intrinseci.

Fluorescenza. In funzione del tipo e del numero di sorgenti luminose, quando una cellula passa attraverso la zona di captazione, essa emette una luce fluorescente. Dei segnali di fluorescenza sono generati dai marcatori fluorescenti normalmente presenti nelle cellule (per esempio, coenzimi, clorofilla, pigmenti di alghe) e/o mediante sonde fluorescenti adsorbite dalle cellule durante la marcatura per l'analisi di caratteristiche specifiche (per esempio, anticorpi fluorescenti, marcatori di acidi nucleici, sonde di pH, sonde calcio, proteine fluorescenti). Attualmente è disponibile un ampio numero e un'ampia gamma di differenti tipi di sonde fluorescenti. I filtri ottici devono essere adattati ai fluorocromi utilizzati e cambiati se necessario. Ciascuna sonda fluorescente è caratterizzata dal suo spettro di eccitazione e dal suo spettro di emissione. Esse sono scelte in funzione della natura della sorgente di eccitazione e del sistema di rivelazione dell'apparecchio e secondo lo scopo specifico dell'analisi.

GESTIONE DEL SEGNALE E CONVERSIONE DA ANALOGICO IN NUMERICO

I segnali di diffusione e di fluorescenza emessi dalle cellule quando esse passano attraverso il fascio laser sono smistati e diretti verso i rivelatori con l'ausilio di filtri ottici. I rivelatori sono dei trasduttori (fotomoltiplicatori (PMT)) che convertono i segnali luminosi irradiati dalle cellule in impulsi di tensione.

Il processo di conta di ciascun impulso nel canale appropriato è noto come Conversione Analogico Numerico (CAN, "Analogue to Digital Conversion, ADC"). Il processo è infine mostrato come un istogramma di frequenza.

Amplificazione. Gli impulsi di tensione devono essere amplificati per una visualizzazione ottimale. Il procedimento di amplificazione accentua le differenze tra i segnali cellulari e aumenta conseguentemente la risoluzione tra le popolazioni cellulari aventi caratteristiche differenti (permettendo, per esempio, la differenziazione tra le cellule vitali e non vitali, oppure tra la fluorescenza non specifica e la fluorescenza specifica dell'antigene dopo marcatura con un anticorpo monoclonale).

Esistono due metodi di amplificazione: lineare o logaritmica; la scelta tra i due tipi si effettua per ciascun segnale in funzione delle caratteristiche morfologiche delle cellule e dei marcatori utilizzati (per esempio, anticorpi monoclonali fluorescenti, marcatori di acidi nucleici).

L'amplificazione lineare, che accentua le differenze tra gli impulsi forti, è utilizzata con i parametri che generano dei segnali di intensità elevata, come per esempio:

- la diffusione della luce da parte delle cellule,
- la fluorescenza dei marcatori di acidi nucleici per gli studi dei cicli cellulari.

L'amplificazione logaritmica, al contrario, è per gli impulsi e i parametri deboli o per le condizioni di analisi che possono generare sia impulsi forti che deboli, come per esempio:

- gli antigeni cellulari,
- la diffusione della luce da parte di piastrine, di batteri, di lieviti,
- la fluorescenza dei marcatori di acidi nucleici per gli studi di apoptosi.

Compensazione dei segnali di fluorescenza. Ciascun marcatore fluorescente ha uno spettro di lunghezza d'onda di assorbimento ed uno spettro più elevato di lunghezza d'onda di emissione. Se due o più sonde fluorescenti sono utilizzate contemporaneamente per marcare le cellule (come per esempio, un immunofenotipo su 4 antigeni), gli spettri di emissione dei fluorocromi possono sovrapporsi. Come conseguenza ciascun rivelatore di fluorescenza capta la sua luce fluorescente specifica e quantità variabili di luce emessa da altre sonde fluorescenti. Ne risulta una sovrastima del segnale e una cattiva separazione delle popolazioni cellulari.

La soluzione consiste nell'utilizzare una matrice elettronica che permette di sottrarre selettivamente i segnali interferenti da ciascun segnale di fluorescenza captato dal rivelatore (compensazione della fluorescenza).

La compensazione della fluorescenza necessita dell'uso di standard di fluorescenza, preferibilmente di campioni cellulari positivi marcati con i fluorocromi di interesse, combinati in maniera equivalente a quella dell'anticorpo utilizzato per l'analisi.

TRACCIATO DEL SEGNALE E RAPPRESENTAZIONE

Dopo l'amplificazione e la compensazione, i segnali sono rappresentati in due o tre dimensioni. Gli istogrammi rappresentano l'intensità dei segnali in funzione del numero di cellule per un dato parametro. I citogrammi, dove ciascuna cellula è rappresentata da un punto, risultano dalla combinazione di due intensità di segnale (rappresentazione biparametrica). Il tipo e il numero di punti e di combinazioni dei segnali sono scelti sulla base dei campioni e delle sonde utilizzate. Durante l'analisi dei dati acquisiti, il software del citometro a flusso può anche generare altri tipi di grafici (come sovrapposizioni, diagrammi di superficie, tomoigrammi, contorno 3D, diagramma di isodensità, diagrammi sovrapposti).

Possono essere usati anche i dati statistici come l'intensità di fluorescenza media (e le loro variazioni con il tempo o secondo la funzione cellulare).

ANALISI DEI DATI

In seno alle sospensioni cellulari da analizzare possono essere presenti differenti tipi di popolazioni di cellule, alcuni dei quali possono essere indesiderati (come cellule morte, residui o macroaggregati) o semplicemente non importanti per l'analisi (per esempio i granulociti durante lo studio dei linfociti).

Questo dipende dal tipo di campione di cellule (sangue intero, midollo osseo, colture di cellule, fluidi biologici, sospensioni cellulari derivate da tessuti solidi) e dalle procedure di manipolazione (per esempio, metodi di colorazione, lisi, fissazione, crioconservazione, scongelamento, la preparazione dei tessuti inclusi nella paraffina).

Di conseguenza non tutti i segnali generati nel corso di un'analisi di citometria a flusso appartengono alle cellule da esaminare. Per escludere i segnali cellulari non desiderati o non pertinenti sono adottate due strategie.

La prima è usata durante l'acquisizione dei dati. Essa consiste in una soglia di rumore applicata ad un (o più) parametro(i) significativo(i) fissato in maniera tale che siano registrati solo i segnali cellulari d'intensità superiore al valore discriminante predefinito per un dato parametro. La diffusione frontale è caratterizzata da un segnale forte associato ad interferenze deboli, questo parametro è quello più spesso utilizzato come discriminante.

La seconda strategia, applicata durante l'analisi dei dati, consiste nell'uso di regioni di combinazioni ("gating") per restringere l'analisi solo a segnali provenienti da quelle popolazioni che soddisfano definite caratteristiche morfologiche e di profilo di espressione. Generalmente sono utilizzati 2 tipi di combinazioni logiche per regione. La prima è la finestratura morfologica. Le popolazioni cellulari sono identificate mediante i loro segnali morfologici (FS e SS). Una combinazione delle regioni è tracciata intorno alla popolazione di interesse (come per esempio i linfociti o le cellule vitali) poi il diagramma dei segnali di fluorescenza è fatto in seno alle regioni scelte. Il secondo tipo di finestratura è basato sulla fluorescenza. La popolazione cellulare di interesse è identificata sulla base dell'intensità dell'espressione di un antigene o di un marcatore. Il contorno della regione che delimita questa popolazione è allora tracciato. Il diagramma dei segnali di fluorescenza si fa quindi in seno alle regioni scelte.

Il software d'analisi permette la creazione di finestre multiple, secondo un ordine logico sequenziale. Questa funzione è particolarmente utile per lo studio di popolazioni cellulari rare o a scopi di selezione.

CONTROLLI

Controllo interno. L'allineamento ottico del sistema deve essere convalidato prima dell'analisi con l'ausilio di sfere fluorescenti adatte e deve essere verificata la stabilità ottimale del fluido. I dati ottenuti sono registrati e permettono l'esame dei valori derivati dai controlli periodici confrontandoli con il valore medio di performance. Un controllo positivo è altamente auspicabile per provare che l'anticorpo in esame è funzionale e può permettere una regolazione appropriata del citometro. Il controllo positivo deve comprendere dei campioni per i quali è stato stabilito che essi siano positivi per il marcatore in questione.

Controllo esterno. Per garantire l'affidabilità dei dati ottenuti o per verificare la riproducibilità tra i laboratori, si raccomanda di partecipare a uno studio di fattibilità (proficiency).

2.7.25. DOSAGGIO DELL'INIBITORE DELLA PLASMINA UMANA

L'inibitore della plasmina umana, anche noto come α_2 -antiplasmina umana, è una proteina plasmatica che inibisce la fibrinolisi ad opera della plasmina, una serina-proteasi, formando un complesso con la plasmina libera. Inoltre, nel processo di coagulazione del sangue, l'inibitore della plasmina umana forma legami crociati con i filamenti di fibrina per mezzo del fattore XIII ed interferisce con il legame del proenzima plasminogeno alla fibrina.

L'attività dell'inibitore della plasmina umana è determinata confrontando la capacità della preparazione in esame di inibire la scissione di uno specifico substrato cromogeno ad opera della plasmina con la stessa capacità di uno standard di riferimento dell'inibitore della plasmina umana.

La scissione del substrato cromogeno rilascia un cromoforo che può essere quantificato per via spettrofotometrica.

I singoli reattivi per il dosaggio possono essere ottenuti separatamente o sono disponibili in kit commerciali. Sono disponibili il metodo al punto finale e il metodo cinetico. Le procedure e i reattivi possono differire nei diversi kit e devono essere seguite le istruzioni dei fabbricanti. Gli aspetti essenziali della procedura sono descritti nell'esempio, riportato di seguito, di un metodo cinetico in piastra di microtitolazione.

REATTIVI

Tampone di diluizione a pH 7,5. In accordo con le istruzioni del fabbricante, utilizzare un tampone appropriato. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Plasmina. E' preferibile utilizzare una preparazione di plasmina umana che non contiene quantità significative di altre proteasi. Ricostituire e conservare secondo le istruzioni del fabbricante.

Substrato cromogeno della plasmina. Utilizzare uno specifico substrato cromogeno per la plasmina: H-D-cicloesilalanil-norvalil-lisil-p-nitroanilina cloridrato (H-D-CHA-Nva-Lys-pNa.HCl) o L-piroglutamyl-L-fenilalanil-L-lisina-p-nitroanilina cloridrato (Glp-Phe-Lys-pNa.HCl). Ricostituire in *acqua R* in modo da ottenere un'appropriata concentrazione secondo le istruzioni del fabbricante.

METODO

Mescolare quantità diverse della preparazione in esame con una quantità definita di plasmina e determinare l'attività rimanente della plasmina utilizzando un appropriato substrato cromogeno.

Ricostituire o scongelare la preparazione in esame secondo le istruzioni del fabbricante. Diluire con il tampone di diluizione a pH 7,5 e preparare almeno due serie indipendenti di 3 o 4 diluizioni rispettivamente della preparazione in esame e della preparazione di riferimento.

Mescolare 0,020 ml di ciascuna diluizione con 0,020 ml del tampone di diluizione a pH 7,5 e scaldare a 37 °C. Aggiungere 0,040 ml di plasmina soluzione (concentrazione in esame nell'intervallo di 0,2, nkat/ml-1,6 nkat/ml) precedentemente scaldata a 37 °C e lasciare a 37 °C per 1 min. Aggiungere 0,020 ml di substrato cromogeno soluzione, precedentemente scaldata a 37 °C, a ciascuna miscela e misurare la densità ottica alla lunghezza d'onda di 405 nm. Sottrarre la densità ottica del bianco (preparata con il tampone di diluizione a pH 7,5) dalla densità ottica della preparazione in esame. Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività della preparazione in esame mediante i metodi statistici usuali (5.3).

2.7.27. INDICE DI FLOCCULAZIONE (Lf) DELLE TOSSINE E DELLE ANATOSSINE DIFTERICA E TETANICA (DOSAGGIO RAMON)

Il contenuto di tossina o di anatossina in un campione può essere espresso mediante un indice di flocculazione (Lf) utilizzando il dosaggio di Ramon. In questo dosaggio, l'anatossina è aggiunta in concentrazioni crescenti ad una serie di provette contenenti una quantità costante di tossina o di anatossina. Al punto di equivalenza tossina/anatossina e antitossina, si produce una flocculazione in una o più provette. La prima provetta nella quale si verifica la flocculazione è utilizzata per determinare il valore di Lf del campione.

L'indice Lf di una tossina o di una anatossina è determinato mediante il numero di unità di antitossina che, mescolate con il campione, producono una miscela di flocculazione massima (dosaggio Ramon).

L'esperienza pratica ha dimostrato che la taratura delle antitossine in Unità Internazionali (U.I.), per esempio mediante confronto con gli standard internazionali di antitossine, dipende dal metodo immunochimico utilizzato. Per questa ragione, le antitossine utilizzate per il dosaggio Ramon devono essere direttamente tarate rispetto ai *reattivi biologici internazionali di riferimento per i saggi di flocculazione dell'anatossina difterica o tetanica*, usando i principi descritti di seguito. La concentrazione così determinata può essere indicata in Lf-equivalenti per millilitro (Lf-eq./ml).

Per definizione, 1 Lf è la quantità di tossina o anatossina che floccula nel tempo più breve in presenza di 1 Lf-eq. di antitossina specifica.

Una serie di volumi dello standard di riferimento dell'antitossina portata ad una concentrazione di 100 Lf-eq./ml è ripartita in una serie di provette di flocculazione di 7 cm × 1 cm per esempio. A ciascuna provetta è aggiunta una quantità sufficiente di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere un volume totale costante per esempio di 1 ml. Il campione in esame è diluito ad una concentrazione ipotetica di circa 50 Lf/ml, ed aliquote per esempio di 1 ml di questa diluizione sono distribuite in ciascuna provetta contenente l'antitossina. Le provette sono mescolate correttamente mediante agitazione, poi poste a bagno maria a temperatura costante tra 30 °C e 52 °C ed osservate ad intervalli regolari al fine di svelare la prima comparsa dei flocculi. Queste osservazioni possono richiedere l'uso di una lente di ingrandimento e una forte illuminazione.

La prima e la seconda miscela che flocculano sono annotate, così come il tempo necessario alla prima flocculazione. Due provette possono presentare flocculazione contemporaneamente.

La prima provetta a flocculare è quella che contiene la quantità di antitossina più prossima in equivalenza alla quantità di antigene presente nel campione. Il contenuto di antitossina di questa provetta può essere utilizzato per calcolare l'indice Lf del campione. Se due provette presentano contemporaneamente flocculazione, il risultato è ottenuto facendo la media dalle due provette.

Il tempo necessario affinché si abbia la prima flocculazione (Kf) costituisce un indicatore utile della qualità dell'antigene. Un aumento di Kf rispetto al valore normale ad una data temperatura e concentrazione di anatossina e di antitossina indica che l'antigene è deteriorato. Il valore di Kf può variare anche con la quantità dell'antitossina utilizzata.

Determinazione quantitativa delle cellule progenitrici ematopoietiche umane che formano colonie

Esempio

Provetta	A	B	C	D	E	F
Antitossina aggiunta (Lf-eq.)	40	45	50	55	60	65
Antitossina aggiunta (ml)	0,40	0,45	0,50	0,55	0,60	0,65
Soluzione salina aggiunta (ml)	0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35
Campione diluito aggiunto	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

In questo esempio, se la prima provetta a presentare una flocculazione è la provetta C, l'indice Lf del campione diluito è dunque di 50 Lf/ml. Tuttavia, se la prima provetta a presentare una flocculazione è la provetta A o la provetta F non si può avere l'indicazione di equivalenza a questo livello. In questo caso sarà necessario ripetere il saggio modificando la diluizione del campione in esame o la gamma di dosi dell'antitossina di riferimento.

Una precisione maggiore può essere ottenuta considerando la sequenza di flocculazione dopo la prima provetta. Così, nell'esempio citato, se la seconda provetta a presentare una flocculazione è la provetta D, l'indice finale relativo al campione diluito sarà 52, mentre se la seconda provetta a presentare flocculazione è la provetta B, l'indice finale sarà 48. Il dosaggio può essere effettuato in doppio con delle diluizioni leggermente differenti del campione in esame.

Se non esiste nessuna indicazione dell'indice Lf ipotizzato del campione disponibile, è consigliabile ottenere una stima approssimativa utilizzando una gamma più ampia del contenuto di antitossina nelle provette prima di procedere al dosaggio finale.

Esempio

Provetta	A	B	C	D	E	F
Contenuto di antitossina (Lf-eq.)	20	30	45	70	100	150

I livelli di concentrazione di tossina o di anatossina e di antitossina nel dosaggio possono variare, ma questo può influenzare considerevolmente il tempo di flocculazione, cosicché a livelli bassissimi il dosaggio durerà troppo a lungo, mentre a concentrazione elevata la flocculazione rischia di verificarsi così bruscamente da rendere difficile distinguere tra la prima e la seconda provetta che presentano la flocculazione.

Determinazione di concentrazioni deboli mediante flocculazione dopo mescolamento

Per concentrazioni bassissime, è preferibile misurare le tossine o le anatossine mediante il metodo di flocculazione dopo mescolamento. Questo metodo consiste nel confrontare l'indice Lf di una tossina o di un'anatossina note con quello di una miscela del campione con questa tossina o anatossina.

Nel caso di una miscela di una tossina o di una anatossina con indice Lf noto e di una tossina o anatossina con indice Lf non conosciuto, l'indice Lf ottenuto corrisponderà alla somma dei loro rispettivi indici se esse sono omogenee. Se sono miscelate delle tossine o delle anatossine non omogenee, queste produrranno un profilo aberrante con 2 massimi di flocculazione.

2.7.28. DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLE CELLULE PROGENITRICI EMATOPOIETICHE UMANE CHE FORMANO COLONIE

Il sistema ematopoietico rappresenta un continuum di cellule il cui fenotipo e le cui proprietà cambiano durante la progressione da cellule staminali a cellule differenziate.

Le cellule progenitrici ematopoietiche (Haematopoietic progenitor cells HPCs) sono capaci di formare colonie o ammassi cellulari (cell clusters) in colture fatte crescere in terreno semi-solido e vengono chiamate clonogeniche. La determinazione del numero di cellule capaci di formare colonie (CFC) in un prodotto cellulare è un indicatore della capacità funzionale delle cellule progenitrici ed è un fattore di previsione della ricostituzione ematopoietica. Il numero misurato di CFC correla con il numero minimo di progenitori presenti nel campione.

MARCATORI DI SUPERFICIE CELLULARE

La capacità di cellule che formano colonie di dare origine a colonie ematopoietiche *in vitro* e/o di ricostituire il sistema ematopoietico è stata correlata con l'espressione di specifici antigeni di superficie cellulare. L'espressione dell'antigene di membrana CD34 è un marcatore accettato per la maggior parte delle cellule progenitrici e delle staminali ematopoietiche.

SPECIFICITÀ DELLA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLE COLONIE

Le cellule che formano colonie sono identificate con una nomenclatura basata sulle linee di origine delle cellule mature presenti nella colonia (per es., CFU-mix, CFU-GEMM, CFU-GM, CFU-G, CFU-M, BFU-E, CFU-E, CFU-Meg) e sono una popolazione di progenitori capaci di generare colonie che contengono una o più linee di origine di cellule ematopoietiche. A queste

cellule è stata associata una bassa o nulla capacità di auto-rinnovamento, in confronto alle cellule staminali più immature.

La quantità e il tipo di fattori di crescita forniti durante la coltura modulano il tipo e la dimensione delle colonie che si formeranno.

Una maggiore specificità sulla classe generale di cellule progenitrici ematopoietiche e sul loro relativo potenziale proliferativo è fornita dal tempo necessario per il differenziamento *in vitro* in cellule mature. Il tempo necessario alle cellule post-natali che formano colonie per dare origine a una colonia formata da cellule mature *in vitro* è di 10-14 giorni.

ASSICURAZIONE DELLA QUALITÀ PER UN DOSAGGIO DELLE CELLULE FORMANTI COLONIA

Per la generale qualità del dosaggio delle cellule che formano colonie è assolutamente importante seguire un approccio strettamente standardizzato. Si raccomanda perciò di effettuare convalide intra- e inter-laboratorio. La sorgente dei materiali, compresi i reattivi, i fattori di crescita e il materiale monouso, deve essere identificata.

I fattori principali che influiscono sulla variabilità nel dosaggio delle CFC sono il numero di cellule seminate e l'identificazione delle colonie. Si può osservare fino al 15 per cento di variabilità intra-laboratorio per uno stesso saggio. Se è necessario valutare il numero di cellule che formano colonie in una popolazione purificata, è possibile usare un approccio di diluizione al limite dove il numero dei pozzetti positivi per proliferazione cellulare sia misurato con un sistema automatizzato.

L'altra sorgente principale di variabilità deriva dall'uso di materiali non definiti (per esempio, siero bovino fetale o albumina sierica bovina) nel dosaggio delle CFC. Questi prodotti derivano da miscele di materiali di partenza e forniscono uno stimolo non specifico alla proliferazione cellulare. Tuttavia, non è infrequente trovare lotti con caratteristiche particolari che stimolano selettivamente la proliferazione di linee ematopoietiche specifiche.

Infine, è consigliabile che ci sia un basso livello di endotossine (inferiore a 0,01 U.I./ml o a 0,01 U.I./mg) in tutti i materiali usati per il saggio clonogenico, poiché livelli più alti danno come risultato prima una deriva progressiva dell'espressione delle linee ematopoietiche nelle colture e successivamente inducono una più generale inibizione della proliferazione cellulare e della clonogenesi.

DOSAGGIO CLONOGENICO DELLE CFC

Il dosaggio delle CFC è basato sulla capacità delle cellule progenitrici di formare colonie quando sono seminate su terreno semi-solido o in un gel in presenza di fattori di crescita specifici. Si possono usare diversi tipi di terreni semi-solidi (per esempio, metilcellulosa, collagene, agar e plasmaclot) in funzione del risultato finale desiderato. I terreni disponibili sul mercato di solito danno risultati più riproducibili.

MATERIALI

Effettuare la convalida almeno per i seguenti materiali critici.

Fattori di crescita. Per ottenere il maggior numero di colonie da una sospensione cellulare che contiene una popolazione mista di cellule progenitrici ematopoietiche (HPCs), sono necessari fattori di crescita sia multilinea (come il fattore che si lega al Kit o fattore di crescita delle cellule staminali, SCF, l'interleuchina-3 e il fattore che stimola le colonie granulocitiche-macrofagiche, GM-CSF) sia specifici per una linea (eritropoietina, fattore che stimola le colonie granulocitiche, G-CSF).

Altri componenti dei terreni. I terreni possono essere arricchiti con siero (in particolare con siero fetale bovino) e/o albumina.

COLTURA CELLULARE

Cellule. Il campione messo in coltura deve rappresentare il prodotto cellulare iniettato. Per questo dosaggio sono necessarie sospensioni cellulari. Nel caso di aspirati midollari, tali sospensioni si possono ottenere spremendo il midollo osseo attraverso un setaccio oppure attraverso aghi di calibro progressivamente minore. Passaggi ripetuti attraverso un ago di calibro 21 sono di solito sufficienti per disperdere gli ammassi cellulari in una sospensione cellulare.

SEMINA SU PIASTRA E CONTEGGIO

Le cellule diluite nel terreno di coltura sono mescolate al terreno semi-solido. Di solito si semina 1 ml della miscela su una piastra di Petri sterile non trattata (diametro 35 mm.).

A causa della viscosità del terreno, non si può seminare la miscela con pipette a dislocamento d'aria ed è necessario usare siringhe fornite di aghi con la punta larga (calibro ≤ 18).

Il numero di cellule da seminare dipende dalla concentrazione di cellule progenitrici ematopoietiche (HPCs) nel campione da esaminare. Il numero di cellule semi-

nate deve permettere di contare tra 40 e 80 colonie per piastra (diametro 35 mm) per fare in modo che nessuna colonia sia derivata da due differenti HPCs troppo vicine. Il numero desiderato di colonie per piastra può essere ottenuto sia dalla percentuale di cellule CD34+ (o concentrazione di cellule CD34+/ml) determinata per mezzo della citometria a flusso (2.7.24) sia facendo diluizioni diverse della sospensione cellulare (di solito sono sottoposte a saggio due concentrazioni).

Incubare le piastre in condizioni aerobiche con una concentrazione di anidride carbonica del 5 per cento, a 37 °C in atmosfera satura di umidità per 10-14 giorni, e poi contare il numero di colonie sotto un microscopio invertito. Manipolare le piastre contenenti le colonie con cura poiché il terreno con metilcellulosa è viscoso ma non gelificato. Se si inclina una piastra le colonie si mescolano e si allungano, rendendo il conteggio probabilmente non corretto.

IDENTIFICAZIONE DELLE COLONIE

La dimensione e la struttura delle colonie dipendono dal tipo di cellule mature che le costituiscono. 50 cellule per colonia è generalmente considerato il minimo. La presenza di cellule emoglobinizzate identifica i progenitori della linea eritroide. Poiché la quantità di cellule mature per ciascuna linea dipende in gran parte dai fattori di crescita aggiunti alle colture, si raccomanda di non effettuare conteggi differenziati a meno di indicazione contraria.

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

I risultati della coltura delle CFC sono di solito espressi come la media aritmetica del numero di colonie contate in almeno 3 piastre del saggio. Il numero medio di colonie è poi correlato con 10^4 o 10^5 cellule vitali nucleate messe in coltura.

2.7.29. CONTA E VITALITÀ DELLE CELLULE NUCLEATE

La determinazione della qualità di una sospensione cellulare richiede misure accurate sia della concentrazione cellulare sia della percentuale di cellule vitali. Questi dati sono essenziali nel processo decisionale per la preparazione dei prodotti cellulari e per mantenere condizioni di coltura ottimali. La conta cellulare può essere espressa come numero di cellule per volume di sospensione cellulare e la vitalità cellulare come numero di cellule vitali per volume di sospensione cellulare. La procedura di conta cellulare può essere eseguita manualmente (emocitometro) oppure usando un apparato

automatizzato (per esempio, contaparticelle, citofluorimetro). Si possono usare metodi diversi da quelli descritti di seguito.

NUMERO DI CELLULE

CONTA MANUALE

Descrizione dell'apparato e del saggio principale. Sono necessari i seguenti materiali:

- un emocitometro: è una speciale camera di conta microscopica disponibile in diversi modelli. Consiste di uno spesso vetrino e di un copri-oggetto, montato per delimitare una camera che ha volume specifico per ciascun modello. Il vetrino spesso dei vari emocitometri consiste di camere di conta separate da alti bordi per evitare il travaso da una all'altra. La camera di conta è scavata nel vetro e contiene una griglia specifica per ciascun modello;
- un microscopio ottico a basso potere di ingrandimento da $10\times$ a $40\times$;
- pipette di adatto intervallo di volumi.

L'emocitometro è usato per determinare il numero di cellule di una data soluzione calcolando la concentrazione cellulare per millilitro (C) con la seguente espressione:

$$a \times 10^n \times d$$

a = numero di cellule contate,

d = fattore di diluizione (se applicabile),

n = fattore variabile con il volume della camera dell'emocitometro.

È possibile distinguere popolazioni cellulari miste purché differiscano per dimensione o pigmentazione (per esempio, linfociti e eritrociti).

Preparazione della camera di conta e analisi. Montare il coprioggetto (leggermente umidificato ai bordi) sul vetrino. Muovere il coprioggetto avanti e indietro sul vetrino, premendo leggermente sui bordi. Preparare un'adeguata diluizione della sospensione cellulare in tampone isotonic o in tampone di emolisi.

Aggiungere un appropriato volume della diluizione alla camera di conta. Mettere il liquido sul bordo del coprioggetto e lasciare fluire dentro la camera per capillarità. Con cautela mettere l'emocitometro in posizione sotto il microscopio e mettere a fuoco. Contare le cellule in una zona della griglia. Calcolare la concentrazione nei campioni diluiti e in quelli originali.

Per aumentare l'accuratezza della misura, è importante rispettare le seguenti fondamentali precauzioni:

- usare solo coprioggetti di spessore adeguato;

- se possibile, contare più di 100 cellule (se necessario, contare più aree);
- se si evidenziano aggregati cellulari (cioè se la sospensione non è monocellulare), risospendere le cellule prima di prelevare un campione per contare di nuovo;
- evitare di riempire troppo o troppo poco la camera di conta, altrimenti il volume non sarà più accurato.

METODI DI CONTA AUTOMATIZZATI

Contaparticelle basati sulla variazione di conduttività.

Gli apparecchi elettronici contaparticelle misurano la dimensione e il numero delle particelle in una soluzione.

I contaparticelle sono calibrati prima dell'uso con una soluzione di particelle di concentrazione e dimensione note. Allo scopo di permettere di contare particelle di varie dimensioni, sono disponibili tubi di diverso calibro. Questi apparecchi non permettono di distinguere tra cellule vive e cellule morte. Poiché anche i detriti cellulari possono generare impulsi che possono causare errori, i contaparticelle hanno un controllo di soglia che permette di contare solo le particelle più grandi.

L'apparecchio deve essere sottoposto a qualifica per la conta dei prodotti cellulari (in termini di linearità, accuratezza, ecc.).

Contaparticelle basati su citometria a flusso (2.7.24).

Il citometro a flusso è calibrato con particelle di riferimento a concentrazione e dimensioni note allo scopo di ottenere un numero assoluto di cellule per volume. Tuttavia, non è più necessaria una soluzione di calibrazione negli strumenti che usano 2 elettrodi inseriti nella camera di campionamento, dove la dimensione fissa della camera di campionamento e la distanza tra i 2 elettrodi permettono di misurare il contenuto di un volume fisso. Questo tipo di strumenti di rado necessita di essere calibrato dopo la messa a punto iniziale.

VITALITÀ

Questa sezione si applica alla colorazione delle cellule con coloranti per la vitalità e all'analisi manuale o automatizzata, con microscopio ottico oppure citometro a flusso, di una sospensione cellulare allo scopo di determinare la percentuale di cellule vitali.

I risultati possono cambiare a seconda del tipo di cellule e del metodo usato.

METODO MANUALE PER ESCLUSIONE DEL COLORANTE

Saggio principale. Questo saggio è basato sull'esclusione del colorante dalle cellule vitali mentre le cellule

morte o danneggiate lo assorbono e si colorano. Fornisce informazioni sull'integrità della membrana citoplasmatica ma il suo risultato non riflette necessariamente la funzionalità cellulare. Cellule vitali che sono state da poco trattate con tripsina o scongelate possono avere membrane bucate che causano l'assorbimento del colorante.

Colorante. Il blu tripano è il colorante più comunemente usato per distinguere le cellule vitali dalle non vitali, ma si possono anche usare altri coloranti adatti come eritrosina B o nigrosina. Il blu tripano è un colorante acido (M_r 961), un anione con quattro gruppi solfonato che si lega facilmente alle proteine; perciò la concentrazione proteica della preparazione in esame deve essere la più bassa possibile.

Condizioni di saggio. La fissazione del colorante è fortemente influenzata dal pH, in un intervallo che va da 6,6 a 7,6. La fissazione è ottimale a pH 7,5. Convalidare le altre condizioni, come concentrazione di colorante e tempo di colorazione.

Condizioni di conservazione del colorante. In generale si usa una soluzione di blu tripano allo 0,4-0,5 per cento in soluzione sterile fisiologica tamponata con fosfato. Conservare al riparo dalla luce e dall'aria.

Preparazione del saggio e analisi. Colorare la sospensione cellulare alla necessaria diluizione (di solito in soluzione fisiologica tamponata con fosfato) per esempio con una soluzione di blu tripano alla concentrazione finale di 0,1-0,2 per cento. Mescolare con delicatezza. Incubare per non più di 2-4 min a temperatura ambiente. Mescolare con delicatezza e mettere un volume adeguato nella camera di conta. Contare immediatamente.

Determinare al microscopio ottico la percentuale di cellule vitali dal rapporto tra il numero di cellule non colorate e il numero totale di cellule, considerando tutte le cellule colorate come cellule morte. La vitalità (V) si calcola come percentuale usando la seguente espressione:

$$\frac{n}{N} \times 100$$

n = numero di cellule non colorate (vitali);

N = numero totale di cellule (colorate e non colorate).

È essenziale che il tempo di incubazione non ecceda i 4 min poiché in seguito il numero di cellule colorate può aumentare in modo significativo. Per una nuova determinazione, può quindi essere necessario allestire un nuovo saggio.

METODI AUTOMATIZZATI

Citometria a flusso

Saggio principale. Il saggio è basato sulla capacità che hanno certi coloranti di attraversare membrane cellulari danneggiate e legarsi al DNA intercalandosi tra le basi, in modo tale che le cellule morte siano in grado di emettere fluorescenza e possano essere rivelate mediante citometria a flusso (2.7.24). Le cellule non vitali sono valutate e distinte concentrando l'analisi sull'avvenuta colorazione, mentre le cellule vitali rimangono non colorate. Questa analisi è generalmente effettuata con la 7-aminoactinomicina D (7-AAD) oppure con propidio ioduro (PI) ma si possono usare anche altri coloranti adatti allo scopo.

Colorante. 7-AAD e PI sono esempi di sostanze a cui le membrane sono impermeabili, i quali possono essere usati come coloranti vitali.

7-AAD è un analogo della actinomicina D che contiene un aminogruppo sostituito in posizione 7 nel cromoforo. Si intercala tra le basi citosina e guanina del DNA. Le proprietà di spettro della 7-AAD la rendono particolarmente adatta per l'analisi mediante citometria a flusso. Il massimo assorbimento del complesso 7-AAD/DNA è situato nella regione verde dello spettro e perciò è adatto ad un citometro fornito di laser ad argon (lunghezza d'onda di eccitazione di 488 nm). La forte emissione di fluorescenza nel rosso (da 635 nm a 675 nm) del colorante vitale 7-AAD ne facilita l'uso in combinazione con anticorpi coniugati con fluoresceina isotiocianato (FITC) e ficoeritrina (PE), poiché contrariamente al PI gli spettri dei complessi 7-AAD/DNA si sovrappongono in misura minima con quelli di FITC e PE.

PI si lega alla doppia elica del DNA intercalandosi tra le basi, mostrando poca o nulla preferenza di sequenza, e con un rapporto stechiometrico di 1 molecola di colorante per 4-5 paia di basi di DNA. Una volta legato all'acido nucleico, la sua fluorescenza aumenta 20-30 volte, il massimo di eccitazione di fluorescenza si sposta circa 30-40 nm verso il rosso e il massimo di emissione di fluorescenza (615 nm) si sposta circa 15 nm verso il blu. Anche se il suo potere di assorbimento è piuttosto basso, PI mostra uno spostamento di Stokes sufficiente per permettere di rilevare contemporaneamente acidi nucleici e anticorpi marcati con fluoresceina, purché si usino gli adeguati filtri ottici.

Condizioni di conservazione del colorante. $5 \pm 3^\circ\text{C}$.

Preparazione del saggio e analisi. Nel caso di cellule ematopoietiche, il colorante può essere aggiunto dopo la marcatura con CD45, allo scopo di ottenere una migliore separazione delle cellule dai detriti cellulari e

dalle piastrine, selezionando la finestra su CD45+/diffrazione laterale (SS). Le condizioni di incubazione della sospensione cellulare con il colorante sono convalidate in precedenza.

L'incubazione è effettuata a temperatura ambiente, al riparo dalla luce. Se necessario, si lisano i globuli rossi con, per esempio, cloruro di ammonio. In caso contrario, si aggiunge solo il tampone.

La percentuale di cellule vitali è data direttamente dal citometro a flusso e viene dedotta dall'analisi delle cellule positive (cellule morte) nel citogramma (dot plot) SS/7-AAD oppure SS/PI.

I controlli positivi possono comprendere cellule stabilizzate (cellule morte) mescolate con cellule fresche vitali ad un valore desiderato.

Elaborazione digitale delle immagini. L'elaborazione digitale delle immagini permette l'automatizzazione dei metodi basati sull'esclusione del colorante. La sospensione cellulare e la soluzione di colorante vitale sono mescolate direttamente da una macchina. Il sistema, che permette l'aspirazione del campione, la manipolazione dei reagenti e la successiva pulizia dello strumento è completamente automatizzato. Dopo che la sospensione cellulare è stata aspirata e mescolata con quella del colorante, viene pompata nella cella di flusso per l'elaborazione dell'immagine. La sospensione cellulare colorata è aspirata attraverso una camera dove una luce stroboscopica permette a una macchina fotografica di fotografare le cellule che passano nel flusso. Le immagini sono digitalizzate e il numero delle cellule vive o morte è contato dal software.

2.7.30. DOSAGGIO DELLA PROTEINA C UMANA

1. DOSAGGIO CROMOGENO

La proteina C umana è una proteina plasmatica vitamina K-dipendente che, dopo trasformazione in proteina C attivata (PCA), può inibire la coagulazione sanguigna mediante liberazione dei fattori Va e VIIIa. L'attività della proteina C umana è determinata usando un metodo a 2 fasi: nella prima fase, la proteina C umana contenuta nella preparazione è attivata da un attivatore specifico ottenuto dal veleno di serpente; nella seconda fase, la proteina C attivata libera uno specifico substrato cromogeno per formare un cromoforo che può essere quantificato per via spettrofotometrica.

Fase 1

Proteina C umana attivatore della proteina C umana, Proteina C attivata

Fase 2

Substrato cromogeno PCA, peptide + cromoforo

L'attività della proteina C umana è determinata confrontando la capacità della preparazione da esaminare di liberare un substrato cromogeno con la stessa capacità di uno standard di riferimento della proteina C umana titolata in Unità Internazionali. L'Unità Internazionale è l'attività di una quantità definita dello Standard Internazionale della proteina C umana. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

I singoli reattivi possono essere ottenuti separatamente o sono disponibili in kit commerciali. Sono disponibili il metodo al punto finale e il metodo cinetico. Le procedure e i reattivi possono differire nei diversi kit e si devono seguire le istruzioni dei fabbricanti. Gli aspetti essenziali della procedura sono descritti nell'esempio riportato di seguito relativo ad un metodo al punto finale su piastra di microtitolazione.

REATTIVI

Tampone di diluizione a pH 8,4. Disciogliere 6,055 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* e 16,84 g di *cesio cloruro R* in *acqua R* e correggere il pH (2.2.3) se necessario. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Attivatore della proteina C umana. Proteina isolata dal veleno di vipera *Agkistrodon contortrix contortrix* che attiva specificamente la proteina C umana. Ricostituire e conservare secondo le istruzioni del fabbricante. Diluire a 0,25 U./ml con *acqua R* prima dell'uso nel dosaggio.

Substrato cromogeno della proteina C attivata. Utilizzare un substrato cromogeno specifico per la PCA, per esempio L-piroglutamyl-L-prolil-L-arginina-paranitroanilina cloridrato (piroGlu-Pro-Arg-pNA.HCl). Ricostituire con *acqua R* in modo da ottenere una concentrazione 4,5 mmol/l. Diluire ulteriormente a 1,1 mmol/l con il tampone di diluizione a pH 8,4 prima di utilizzarlo nel dosaggio.

METODO

Ricostituire o scongelare la preparazione da esaminare seguendo le istruzioni del fabbricante. Diluire con *acqua R* in modo da preparare almeno 3 diluizioni separate di ciascuna preparazione in un intervallo di concentrazioni di 0,050-0,200 U.I./ml, preferibilmente in doppio.

Fase 1. Mescolare 0,025 ml di ciascuna diluizione con 0,050 ml di attivatore della proteina C umana, entrambe precedentemente riscaldate a 37 °C e mantenere a 37 °C per 10 min esatti. Preparare nello stesso

modo un bianco per ciascuna diluizione, usando *acqua R* al posto dell'attivatore della proteina C umana.

Fase 2. Aggiungere 0,150 ml di substrato cromogeno diluito, precedentemente scaldato a 37 °C a ciascuna miscela e mantenere a 37 °C per 10 min esatti. Se necessario si deve aggiustare il tempo di incubazione per assicurare che la curva di liberazione del cromoforo in funzione del tempo sia lineare. Arrestare la reazione aggiungendo 0,050 ml di una soluzione al 50 per cento V/V di *acido acetico glaciale R*.

La liberazione del substrato cromogeno ad opera della PCA provoca la liberazione del cromoforo pNA in quantità proporzionale alla concentrazione della proteina C umana nella preparazione. Misurare la densità ottica alla lunghezza d'onda di 405 nm. Sottrarre la densità ottica del bianco dalla densità ottica del campione in esame. Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività della preparazione in esame usando i metodi statistici usuali (5.3).

2. DOSAGGIO MEDIANTE COAGULAZIONE

L'attività della proteina C umana è determinata dopo trasformazione in PCA ad opera di un attivatore specifico estratto dal veleno della vipera *Agkistrodon contortrix contortrix*. La PCA risultante inattiva i fattori Va e VIIIa e prolunga così il tempo di tromboplastina parzialmente attivata (APTT, Activated Partial Thromboplastin Time) in un sistema dove sono presenti tutti i fattori della coagulazione in quantità costante e in eccesso, eccetto la proteina C umana che proviene dalla preparazione in esame. Il prolungarsi del tempo di coagulazione è proporzionale alla concentrazione della proteina C umana nella preparazione.

L'attività della proteina C umana è determinata confrontando la capacità della preparazione in esame di prolungare il tempo di coagulazione con la stessa capacità di uno standard di riferimento di proteina C umana titolata in Unità Internazionali. L'Unità Internazionale è l'attività di una quantità definita dello Standard Internazionale della proteina C umana. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

I singoli reattivi possono essere ottenuti separatamente o sono disponibili in kit commerciali. Le procedure e i reattivi possono differire nei diversi kit e si devono seguire le istruzioni dei fabbricanti. Gli aspetti essenziali della procedura sono descritti nell'esempio riportato di seguito.

REATTIVI

Tampone di diluizione a pH 7,4. Utilizzare un tampone isototonico non chelante.

Plasma povero in proteina C umana. Utilizzare plasma umano citratato con un contenuto di proteina C non misurabile. Ricostituire e conservare seguendo le istruzioni del fabbricante.

Attivatore della proteina C umana. Proteina isolata dal veleno di vipera *Agkistrodon contortrix contortrix* che attiva specificamente la proteina C umana. Ricostituire e conservare seguendo le istruzioni del fabbricante.

Attivatore della coagulazione. Può essere utilizzato un reattivo APTT appropriato contenente fosfolipidi e un attivatore di contatto. Può essere combinato con l'attivatore della proteina C umana.

METODO

Ricostituire o scongelare la preparazione in esame seguendo le istruzioni del fabbricante. Diluire con il tampone di diluizione a pH 7,4 in modo da produrre almeno 3 diluizioni separate di ciascuna preparazione nell'intervallo di 0,010-0,150 U.I./ml, preferibilmente in doppio.

Mescolare 1 volume di ciascuna diluizione con 1 volume di plasma povero in proteina C umana ed 1 volume di attivatore della proteina C umana (combinato con il reattivo APTT, se appropriato), tutti previamente scaldati a 37 °C. Aggiungere 1 volume di *calcio cloruro R* previamente scaldato a 37 °C e registrare il tempo di coagulazione.

Il tempo di coagulazione è proporzionale alla concentrazione della proteina C umana in ciascuna diluizione. Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività della preparazione da esaminare utilizzando i metodi statistici usuali (5.3).

2.7.31. DOSAGGIO DELLA PROTEINA S UMANA

La proteina S umana è una proteina plasmatica vitamina K - dipendente che agisce come un cofattore delle funzioni anticoagulanti della proteina C attivata (PCA). L'attività della proteina S umana attivata può essere determinata mediante il saggio di coagulazione descritto di seguito, che è sensibile alla capacità della proteina S umana di accelerare l'inattivazione del fattore Va da parte della PCA. Nella pratica, il dosaggio prevede l'aggiunta di proteina S umana alla miscela di reattivi contenenti PCA, fattore Va e plasma carente in proteina S. Il prolungamento del tempo di coagulazione è proporzionale alla concentrazione di proteina S umana nella preparazione. I metodi nei quali la PCA è

aggiunta direttamente come reattivo sono preferibili a quelli nei quali la PCA è generata nel corso del dosaggio mediante l'aggiunta di un attivatore specifico della proteina C umana purificato dal veleno di vipera. L'attivazione della coagulazione è avviata con l'aggiunta di un reattivo attivante come la tromboplastina o il fattore X attivato, insieme con fosfolipidi e calcio cloruro. Durante il dosaggio, il fattore Va è generato dal fattore V nel plasma carente di proteina S umana seguendo l'attivazione della coagulazione. La procedura di dosaggio deve assicurare che la proteina S umana sia il solo fattore limitante.

L'attività della proteina S umana è valutata confrontando la capacità della preparazione in esame di prolungare il tempo di coagulazione con la stessa capacità dello standard di riferimento della proteina S umana titolata in Unità Internazionali. L'Unità Internazionale è l'attività di una quantità definita dello Standard Internazionale di proteina S umana. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

I singoli reattivi possono essere ottenuti separatamente o in kit disponibili in commercio. Le procedure e i reattivi possono variare tra i differenti kit e si devono seguire le istruzioni del fabbricante. Gli aspetti generali della procedura sono descritti nell'esempio riportato di seguito.

REATTIVI

Tampone di diluizione a pH 7,4. Un tampone isototonico non chelante preparato come segue: disciogliere 6,08 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* e 8,77 g di *sodio cloruro R* in *acqua R* ed aggiustare il pH (2.2.3) se necessario; aggiungere 10 g di *albumina bovina R* o di *albumina umana R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Plasma carente in proteina S umana. Si utilizza plasma umano citratato con un contenuto di proteina S umana non misurabile e, preferibilmente, anche privo di proteina di legame C4b.

Attivatore della coagulazione. Questo reattivo è utilizzato per dare inizio alla coagulazione del plasma carente in proteina S umana e anche per fornire una fonte di fattore V attivato. L'attivatore può essere costituito da fattore tissutale, fattore X attivato, o un agente capace di attivare direttamente il fattore X che può essere purificato dal veleno di vipera di Russel (*Vipera russelli*). Il reattivo può inoltre contenere PCA, fosfolipidi e *calcio cloruro R* o, in alternativa, il calcio cloruro può essere aggiunto separatamente dopo un periodo di tempo di attivazione definito.

METODO

Ricostituire o scongelare la preparazione in esame secondo le istruzioni del fabbricante. Diluire con il tampone di diluizione a pH 7,4 in modo da preparare almeno 3 diluizioni, preferibilmente in doppio, di ciascuna preparazione nell'intervallo 0,020-0,100 U.I./ml.

Mescolare 1 volume di ciascuna diluizione con 1 volume di plasma carente in proteina S umana, entrambi precedentemente scaldati a 37 °C. Aggiungere 2 volumi di attivatore della coagulazione, precedentemente scaldati a 37 °C e registrare il tempo di coagulazione.

Altre procedure possono utilizzare un attivatore della coagulazione senza calcio cloruro e possono richiedere un tempo di attivazione precisamente misurato prima dell'aggiunta di calcio cloruro e la misura del tempo di coagulazione.

Il tempo di coagulazione è proporzionale alla concentrazione della proteina S umana in ciascuna diluizione. Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività della preparazione in esame usando i metodi statistici usuali (5.3).

2.7.32. DOSAGGIO DELL'INIBITORE DELL' α -1-PROTEINASI UMANA

Il contenuto dell'inibitore dell' α -1-proteinasi umana (nota anche come α -1-antitripsina o α -1-antiproteinasi) si determina confrontando la capacità della preparazione in esame di inattivare la serina proteasi elastasi (elastasi pancreatica porcina o elastasi neutrofila umana) con la stessa capacità di uno standard di riferimento di inibitore dell' α -1-proteinasi umana titolato in milligrammi di inibitore dell' α -1-proteinasi attivo (funzionale). Quantità diverse della preparazione in esame sono mescolate con una quantità definita di elastasi e l'attività rimanente dell'elastasi è determinata usando un substrato cromogeno.

Il metodo descritto di seguito è riportato come esempio.

REATTIVI

Tampone tris-albumina soluzione. Disciogliere 24,23 g di *trometamolo R* in *acqua R*, correggere il pH a $8,0 \pm 0,3$ utilizzando *acido cloridrico R1* e diluire a 1000 ml con *acqua R*. A 100 ml di questa soluzione aggiungere 0,5 ml di una soluzione al 20 per cento di *albumina umana R* o *albumina bovina R*.

La soluzione tampone contenente albumina umana o bovina deve essere preparata di recente nel giorno del

suo utilizzo; altrimenti può essere conservata mediante filtrazione sterile (0,2 μ m) e conservata a 2-8 °C per al massimo 2 settimane.

METODO

Preparare 2 serie di 4 o 5 diluizioni con un intervallo di concentrazione appropriato di inibitore dell' α -1 proteinasi umana, sia della preparazione in esame che della preparazione di riferimento, usando la soluzione tampone tris-albumina.

Trasferire 50 μ l delle diluizioni della soluzione di riferimento nei pozzetti di una piastra di microtitolazione e in ciascun pozzetto aggiungere 150 μ l di soluzione di elastasi pancreatica porcina diluita fino ad una concentrazione appropriata con la soluzione tampone tris-albumina. Incubare per un periodo di tempo definito, 3-10 min, a temperatura ambiente. Poiché le attività delle soluzioni delle differenti elastasi pancreatiche porcine possono variare, la concentrazione di elastasi può essere corretta valutando i valori del bianco contenente l'elastasi ma non l'inibitore dell' α -1 - proteinasi umana, per evidenziare un appropriato cambiamento di assorbanza a 405 nm nelle condizioni di dosaggio.

Aggiungere a ciascun pozzetto 100 μ l di una soluzione di substrato cromogeno *N*-succinil-tri-L-alanil 4-*p*-nitroanilide (Suc-Ala-Ala-Ala-*p*NA), ricostituito in *dimetilsolfossido R* in modo da ottenere una soluzione contenente 4,5 mg/ml, poi ulteriormente diluito con la soluzione tampone tris-albumina fino ad ottenere una concentrazione 0,45 mg/ml. Iniziare immediatamente la misura del cambiamento dell'assorbanza (2.2.25) a 405 nm usando un lettore di lastra per microtitolazione proseguendo la determinazione per almeno 5 min. Calcolare l'entità del cambiamento dell'assorbanza ($\Delta A/\text{min}$). Alternativamente si può utilizzare un dosaggio al punto finale arrestando la reazione con acido acetico e misurando l'assorbanza a 405 nm. Se il dosaggio è effettuato in provette da saggio utilizzando gli spettrofotometri per controllare il cambiamento nell'assorbanza a 405 nm, modificare in maniera proporzionale i volumi delle soluzioni dei reattivi.

L'entità del cambiamento dell'assorbanza ($\Delta A/\text{min}$) è inversamente proporzionale all'attività dell'inibitore dell' α -1-proteinasi umana.

Verificare la validità del dosaggio e calcolare l'attività della preparazione in esame mediante i metodi statistici usuali (5.3).

2.8. Metodi generali di farmacognosia

2.8.	Metodi generali di farmacognosia . .	323	2.8.11.	Dosaggio dell'1,8 - cineolo nelle essenze	325
2.8.1.	Ceneri insolubili nell'acido cloridrico	323	2.8.12.	Determinazione delle essenze nelle droghe vegetali.	325
2.8.2.	Elementi estranei	323	2.8.13.	Residui di pesticidi	326
2.8.3.	Stomi ed indice stomatico	323	2.8.14.	Determinazione dei tannini nelle dro- ghe vegetali	329
2.8.4.	Indice di rigonfiamento	324	2.8.15.	Indice di amarezza.	329
2.8.5.	Acqua nelle essenze	324	2.8.16.	Residuo secco degli estratti	330
2.8.6.	Esteri estranei nelle essenze	324	2.8.17.	Perdita all'essiccamento degli estratti	330
2.8.7.	Oli grassi ed essenze resinificate nelle essenze	324	2.8.18.	Droghe vegetali: determinazione del- l'aflossina B ₁	330
2.8.8.	Odore e sapore delle essenze	324	2.8.20.	Droghe vegetali: campionamento e preparazione del campione	333
2.8.9.	Residuo alla evaporazione delle essenze	324			
2.8.10.	Solubilità delle essenze in alcool . .	324			

2.8. METODI GENERALI DI FARMACOGNOSIA

2.8.1. CENERI INSOLUBILI IN ACIDO CLORIDRICO

Le ceneri insolubili in acido cloridrico sono costituite dal residuo ottenuto dopo estrazione con *acido cloridrico R* delle ceneri solforiche o delle ceneri totali e sono calcolate con riferimento a 100 g di droga.

Aggiungere 15 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R* nel crogiolo contenente il residuo ottenuto nella determinazione delle ceneri solforiche o totali. Ricoprire con un vetro da orologio e far bollire dolcemente per 10 min e lasciar raffreddare. Filtrare attraverso un filtro esente da ceneri e lavare il residuo con *acqua R* calda fino a che il filtrato risulta neutro, essiccare il filtro e poi incenerirlo scaldando fino al rosso scuro; lasciar raffreddare in essiccatore e pesare. Ripetere l'incenerimento fino a che la differenza tra due pesate successive non superi 1 mg.

2.8.2. ELEMENTI ESTRANEI

Le droghe vegetali devono essere esenti da muffe, insetti e da altre contaminazioni di origine animale.

Se non è diversamente prescritto, la quantità di elementi estranei non è superiore al 2 per cento *m/m*.

Gli elementi estranei sono costituiti in tutto od in parte da:

1) *Parti estranee*: ogni elemento proveniente dalla pianta madre, ma che non costituisce la droga,

2) *Materie estranee*: ogni elemento, sia di origine vegetale che minerale, non proveniente dalla pianta da cui si ottiene la droga.

DETERMINAZIONE DEGLI ELEMENTI ESTRANEI

Pesare da 100 g a 500 g di droga, oppure la quantità minima indicata in monografia, quindi ripartire il materiale in un sottile strato. Esaminare ad occhio nudo o con l'aiuto di una lente (6 ×). Separare gli elementi estranei, pesare e calcolare la percentuale.

2.8.3. STOMI ED INDICE STOMATICO

STOMI

Tra i tipi di stomi (vedi Figura 2.8.3.-1), che si differenziano per la forma e per la disposizione delle cellule che li circondano, si distinguono:

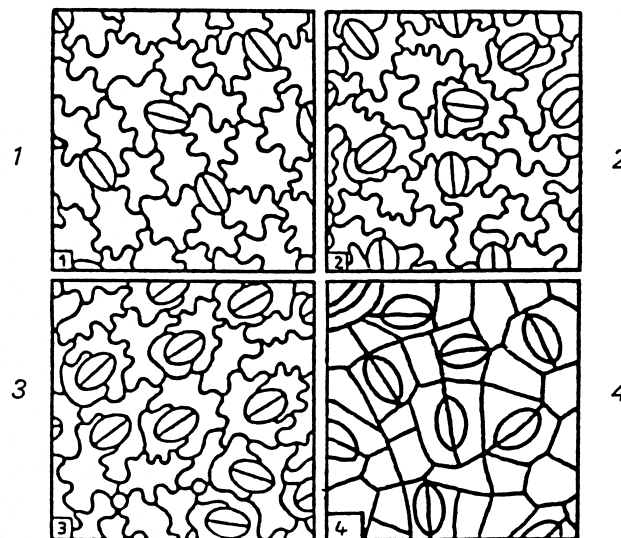


Figura 2.8.3.-1

(1) il tipo *anomocitico* (a cellule irregolari); gli stomi sono circondati da un numero variabile di cellule, che non differiscono dalle altre cellule epidermiche,

(2) il tipo *anisocitico* (a cellule ineguali); gli stomi sono generalmente circondati da tre cellule annesse, delle quali una è nettamente più piccola delle altre,

(3) il tipo *diacitico* (a cellule trasversali); gli stomi sono accompagnati da due cellule annesse, le cui pareti comuni formano un angolo retto con le cellule di guardia degli stomi,

(4) il tipo *paracitico* (a cellule parallele); gli stomi presentano da ciascun lato uno o più cellule annesse, parallele all'asse longitudinale dell'ostiole ed a quello delle cellule di guardia degli stomi.

INDICE STOMATICO

$$\text{Indice stomatico} = \frac{100 \times S}{E + S}$$

S = numero degli stomi per una data superficie fogliare,

E = numero delle cellule epidermiche (inclusi i peli) nella stessa superficie fogliare.

Per ciascun campione di foglia calcolare la media di almeno dieci determinazioni.

2.8.4. INDICE DI RIGONFIAMENTO

L'indice di rigonfiamento è il volume in millilitri occupato da 1 grammo di droga, con la mucillagine che vi aderisce, dopo averla lasciata rigonfiare in un liquido acquoso per 4 h.

Porre 1,0 g di droga intera, o nello stato di suddivisione prescritto in monografia, in una provetta con tappo a smeriglio da 25 ml, a scala graduata dell'altezza di 125 ± 5 mm, con suddivisioni di 0,5 ml. Se non è diversamente prescritto, umettare la droga con 1,0 ml di alcool *R* e aggiungere 25 ml di acqua *R*. Chiudere la provetta ed agitare energicamente, ogni 10 min, per 1 h; lasciare a riposo per 3 h dopo 90 min dall'inizio del saggio, eliminare, mediante rotazione della provetta attorno al suo asse verticale, la maggior parte possibile del liquido trattenuto dalla droga e le particelle di questa che galleggiano sulla superficie del liquido. Misurare il volume occupato dalla droga con la mucillagine che vi aderisce. Effettuare tre saggi contemporaneamente.

L'indice di rigonfiamento è dato dalla media dei tre saggi.

2.8.5. ACQUA NELLE ESSENZE

Mescolare dieci gocce di essenza con 1 ml di carbonio disolfuro *R*. La soluzione ottenuta, lasciata a riposo, rimane limpida.

2.8.6. ESTERI ESTRANEI NELLE ESSENZE

Riscaldare, a b.m. per 2 min, 1 ml di essenza con 3,0 ml di una soluzione (100 g/l) di potassio idrossido *R* in alcool *R*, preparata di recente. Non si devono formare cristalli nei 30 min successivi, anche dopo raffreddamento.

2.8.7. OLI GRASSI ED ESSENZE RESINIFICATE NELLE ESSENZE

Lasciare cadere una goccia di essenza su della carta da filtro. La goccia evapora completamente nelle 24 h successive senza lasciare alcuna macchia traslucida o grassa.

2.8.8. ODORE E SAPORE DELLE ESSENZE

Mescolare tre gocce di essenza con 5 ml di alcool al 90 per cento *V/V R* ed agitare con 10 g di saccarosio *R* polverizzato. L'odore ed il sapore sono simili a quelli della pianta o delle parti della pianta da cui l'essenza è stata ottenuta.

2.8.9. RESIDUO ALLA EVAPORAZIONE DELLE ESSENZE

Il residuo all'evaporazione di una essenza è la percentuale in massa dell'essenza che resta dopo evaporazione a b.m., nelle condizioni appresso specificate:

Apparecchiatura. L'apparecchiatura (vedi Figura 2.8.9.-1) è costituita da:

- un bagno-maria con coperchio munito di fori di 70 mm di diametro,
- una capsula da evaporazione in vetro inerte rispetto al contenuto e termoresistente,
- un essiccatore.

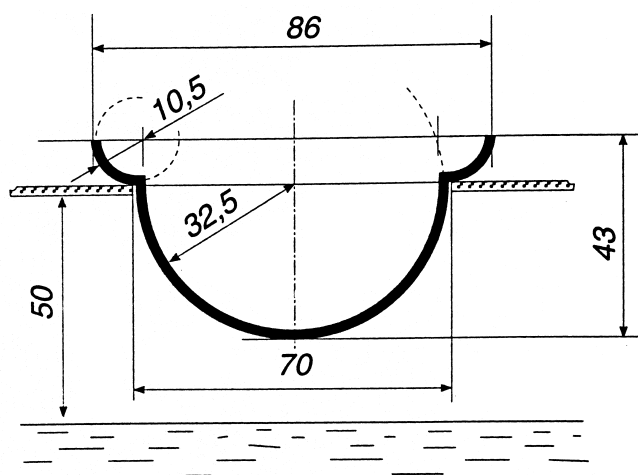


Figura 2.8.9.-1.
Dimensioni in millimetri

Metodo. Scaldare la capsula a b.m. per 1 h, lasciar raffreddare in essiccatore e pesare. Pesare nella capsula 5,00 g di essenza, a meno che non sia altrimenti prescritto. Riscaldare a b.m., al riparo da correnti d'aria, per il tempo prescritto. Lasciar raffreddare nell'essiccatore, poi pesare.

Durante il saggio il livello dell'acqua nel b.m. è mantenuto costante a circa 50 mm al di sotto del livello del coperchio.

2.8.10. SOLUBILITÀ DELLE ESSENZE IN ALCOOL

Introdurre 1,0 ml dell'essenza in esame in una provetta di 25 ml o di 30 ml munita di tappo a smeriglio. Porre in un termostato mantenuto a temperatura costante di $20 \pm 0,2$ °C. Per mezzo di una buretta, di almeno 20 ml di capacità, aggiungere alcool del titolo prescritto dalla monografia, a porzioni di 0,1 ml fino a dissoluzione completa; poi continuare l'aggiunta del solvente, a porzioni di 0,5 ml per volta, fino a 20 ml, agitando frequentemente ed energicamente. Annotare il volume di alcool impiegato allorché è stata ottenuta

una soluzione limpida; se la soluzione si intorbida o diventa opalescente prima che siano stati aggiunti tutti i 20 ml di alcool, prendere nota del volume di solvente impiegato al momento della comparsa dell'intorbidamento o della opalescenza e poi, se del caso, del volume utilizzato fino al momento della scomparsa dell'intorbidamento o dell'opalescenza.

Se non si riesce ad ottenere una soluzione limpida dopo l'aggiunta di 20 ml di alcool del titolo indicato, ripetere il saggio usando un alcool di titolo più elevato.

Una essenza si dice "solubile in n volumi o più di alcool di un dato titolo t " quando la soluzione limpida in n volumi resta limpida, per confronto con l'essenza non diluita, anche dopo aggiunta progressiva di nuove quantità di alcool dello stesso titolo, fino ad un totale di 20 volumi di alcool.

Una essenza si dice "solubile in n volumi di alcool di un dato titolo t , diventando torbida per diluizione" se la soluzione limpida in n volumi diviene torbida in n_1 volumi (n_1 inferiore a 20) e resta torbida dopo aggiunta progressiva di nuove quantità di alcool dello stesso titolo fino ad un totale di 20 volumi di alcool.

Una essenza si dice "solubile in n volumi di alcool di un dato titolo t , diventando torbida tra n_1 ed n_2 volumi" se la soluzione limpida in n volumi diventa torbida in n_1 volumi (n_1 inferiore a 20) e resta tale per aggiunta progressiva di nuove quantità di alcool dello stesso titolo fino ad un totale di n_2 volumi di alcool, quando la soluzione ritorna limpida (n_2 inferiore a 20).

Una essenza si dice "solubile con opalescenza" se la soluzione alcoolica presenta la stessa tinta bluastra di una soluzione opalescente di riferimento preparata al momento dell'uso come segue: mescolare 0,5 ml di *argento nitrato soluzione R2* e 0,05 ml di *acido nitrico R*. Aggiungere 50 ml di una soluzione (12 mg/l) di *sodio cloruro R*. Mescolare e lasciare a riposo per 5 min al riparo dalla luce.

2.8.11. DOSAGGIO DELL'1,8-CINEOLO NELLE ESSENZE

Pesare 3,00 g di essenza, recentemente seccata su *sodio solfato anidro R*, in una provetta ben secca, e aggiungere 2,10 g di *cresolo R* fuso. Porre il tubo nell'apparecchio per la determinazione del punto di solidificazione (2.2.18) e lasciare raffreddare, rimescolando con l'aiuto di un agitatore. Quando ha inizio la cristallizzazione, vi è un leggero aumento di temperatura. Annotare il più alto valore di temperatura raggiunto (t_1).

Fare fondere di nuovo la miscela a b.m. scaldando ad una temperatura che non superi di più di 5 °C il valore t_1 , e porre il tubo nell'apparecchio mantenendo la temperatura 5 °C al di sotto del valore t_1 . Quando la cristallizzazione ha inizio, o quando la temperatura della miscela è scesa di 3 °C al di sotto del valore t_1 , rimesco-

lare la miscela con l'aiuto dell'agitatore. Prendere nota della temperatura più elevata t_2 alla quale la miscela cristallizza. Ripetere l'operazione fino a che i due valori massimi ottenuti per t_2 non differiscono tra di loro di più di 0,2 °C. In caso di sopraffusione, inoculare la cristallizzazione per aggiunta di un piccolo cristallo di un complesso costituito da 3,00 g di *cineolo R* e 2,10 g di *cresolo R* fuso. Se il valore t_2 è inferiore a 27,4 °C, ripetere il dosaggio dopo aver aggiunto 5,10 g del complesso. Il contenuto di cineolo che corrisponde alla temperatura più alta osservata (t_2), è indicato nella Tabella 2.8.11.-1. Se sono stati aggiunti i 5,10 g del complesso, calcolare il contenuto di cineolo del campione, espresso come percentuale m/m , per mezzo della espressione:

$$2(A - 50)$$

dove A è il valore indicato nella Tabella 2.8.11.-1.

Il contenuto di cineolo, corrispondente alla temperatura massima osservata (t_2), si ottiene, se necessario, per interpolazione.

Tabella 2.8.11.-1.

t_2 °C	Percentuale m/m di cineolo	t_2 °C	Percentuale m/m di cineolo	t_2 °C	Percentuale m/m di cineolo	t_2 °C	Percentuale m/m di cineolo
24	45,5	32	56,0	40	67,0	48	82,0
25	47,0	33	57,0	41	68,5	49	84,0
26	48,5	34	58,5	42	70,0	50	86,0
27	49,5	35	60,0	43	72,5	51	88,5
28	50,5	36	61,0	44	74,0	52	91,0
29	52,0	37	62,5	45	76,0	53	93,5
30	53,5	38	63,5	46	78,0	54	96,0
31	54,5	39	65,0	47	80,0	55	99,0

2.8.12. DETERMINAZIONE DELLE ESSENZE NELLE DROGHE VEGETALI

La determinazione delle essenze nelle droghe vegetali si effettua per distillazione in corrente di vapore in un apparecchio speciale, nelle condizioni che vengono di seguito precisate. Il distillato viene raccolto nel tubo graduato in presenza di xilene per fissare l'essenza mentre la frazione acquosa ritorna automaticamente nel pallone generatore di vapore.

Apparecchiatura. L'apparecchiatura è costituita dalle seguenti parti:

- un pallone appropriato a fondo tondo, a collo corto ed estremità conica a smeriglio del diametro interno, all'estremità più larga, di circa 29 mm;
- un apparecchio di condensazione (vedi Figura 2.8.12.-1), in vetro a debole dilatazione termica, che si adatta esattamente al collo del pallone, costituito dalle seguenti diverse parti saldate tra loro:

Determinazione delle essenze nelle droghe vegetali

- il tappo a smeriglio *K'* ha un foro di sfogo ed il tubo *K*, di 10 mm di diametro interno nella parte più larga smerigliata, ha un orifizio del diametro di 1 mm circa che coincide con la foratura del tappo;
 - un rigonfiamento piriforme *J* della capacità di 3 ml;
 - il tubo graduato *JL* è diviso in 0,01 ml;
 - il rigonfiamento *L* è a forma di bolla ed ha una capacità di circa 2 ml;
 - un rubinetto *M* a tre vie;
 - la saldatura *B* è a un livello di 20 mm più alto del punto superiore della graduazione,
- (c) un idoneo apparato di riscaldamento che permetta una regolazione precisa della temperatura,
- (d) un sostegno verticale, con anello orizzontale, rivestito di materiale isolante.

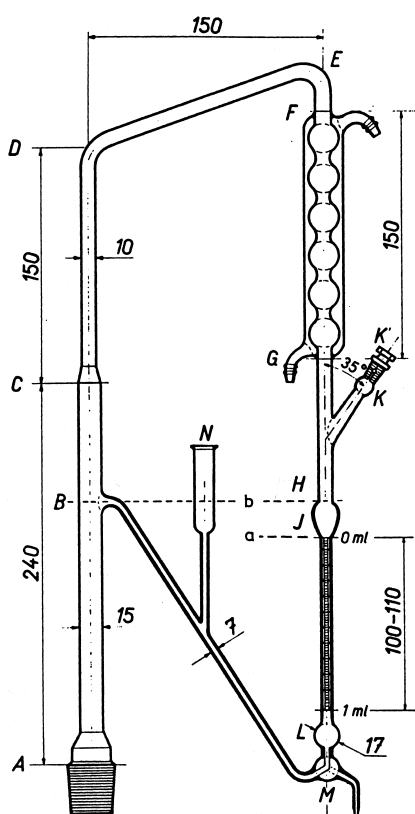


Figura 2.8.12.-1.
Apparecchio per la determinazione delle essenze
nelle droghe vegetali
Dimensioni in millimetri

Metodo. Utilizzare un apparecchio perfettamente pulito. Effettuare il dosaggio secondo la natura della droga in esame. Introdurre nel pallone la quantità di liquido, indicata in monografia, per la distillazione in corrente di vapore, e qualche frammento di pietra porosa. Adattare al pallone l'apparecchio di condensazione. Introdurre *acqua R* attraverso il tubo di riempimento *N* fino al livello *B*. Togliere il tappo *K'* e introdurre la quantità prescritta di *xilene R*, utilizzando una pipetta, appoggiando la punta al fondo della tubatura *K*. Richiudere con il tappo *K'* assicurandosi che gli orifizi coincidano. Scaldare il liquido del pallone fino ad ebollizione e distillare alla velocità di 2-3 ml per minuto se non è diversamente prescritto.

Per determinare la velocità di distillazione, abbassare durante la distillazione il livello dell'acqua nell'apparecchio per mezzo del rubinetto a tre vie in modo che il menisco si trovi nel tratto inferiore (a) (vedi Figura 2.8.12.-2). Chiudere poi il rubinetto e cronometrare il tempo necessario per il riempimento del rigonfiamento fino al tratto superiore (b). Aprire quindi il rubinetto e continuare la distillazione, modificando il riscaldamento per regolare la velocità di distillazione. Distillare per 30 min, sospendere il riscaldamento e leggere, dopo almeno 10 min, il volume di xilene che si è raccolto nel tubo graduato.

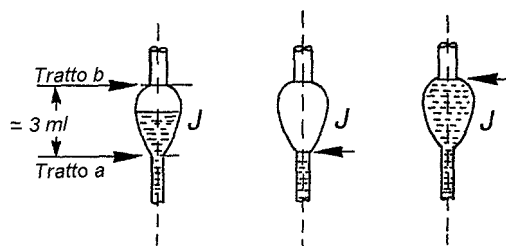


Figura 2.8.12.-2.

Introdurre nel pallone la quantità di droga prescritta e procedere alla distillazione in corrente di vapore, con le stesse modalità sopra specificate, per la durata e con la velocità indicate. Arrestare il riscaldamento e dopo 10 min leggere il volume di liquido raccolti nel tubo graduato e sottrarre il volume dello xilene determinato in precedenza. La differenza costituisce la quantità di essenza presente nella massa esaminata del campione. Calcolare il risultato come millilitri per 100 g di droga. Nel caso in cui l'essenza deve essere utilizzata per altri procedimenti analitici, la miscela xilene-essenza priva di acqua può essere recuperata come segue: togliere il tappo *K'* e introdurre 0,1 ml di una soluzione (1 g/l) di *sodio fluoresceinato R* e 0,5 ml di *acqua R*. Abbassare il livello della miscela xilene-essenza nella bolla *L* mediante il rubinetto a tre vie. Lasciare a riposo per 5 min quindi lasciare colare la miscela lentamente, esattamente fino al livello del rubinetto *M*. Aprire il rubinetto in senso antiorario, in modo che l'acqua possa

colare dal tubo di comunicazione *BM*. Lavare quest'ultimo versando *acetone R* e quindi poco *toluene R*, nel tubo di riempimento *N*. Ruotare ancora il rubinetto nello stesso senso per recuperare la miscela xilene-essenza in un recipiente adatto.

2.8.13. RESIDUI DI PESTICIDI

Definizione. Ai fini della Farmacopea è da considerare come pesticida ogni sostanza od associazione di sostanze destinate a respingere, distruggere o combattere ogni generico inquinante, animale o specie indesiderate di piante che danneggiano o sono comunque di nocimento durante la produzione, la trasformazione, la conservazione, il trasporto o il commercio di droghe vegetali. Il termine comprende le sostanze destinate ad essere utilizzate come regolatori della crescita delle piante, come esfolianti, come disseccanti, così come le sostanze applicate sulle colture sia prima che dopo la raccolta per proteggere i prodotti dal deterioramento durante l'immagazzinamento ed il trasporto. I residui di pesticidi che possono essere presenti sono controllati sia nelle droghe vegetali che nelle preparazioni a base di droghe vegetali.

Limiti. Se non è diversamente indicato in monografia, la droga vegetale in esame soddisfa almeno ai limiti indicati nella Tabella 2.8.13.-1. I limiti da applicare ai pesticidi che non sono riportati nella Tabella 2.8.13.-1 e di cui si sospetta la presenza per una ragione qualunque, sono stabiliti sulla base dei limiti (livelli) fissati dalla direttiva della Comunità Europea n. 396/2005, ivi compresi gli annessi ed i successivi aggiornamenti. I limiti per i pesticidi che non vengono riportati né nella Tabella 2.8.13.-1 né nelle direttive della Comunità Europea sono calcolati utilizzando l'espressione seguente:

$$\frac{ADI \times M}{MDD_{HD} \times 100}$$

ADI = dose giornaliera accettabile, come previsto dalla FAO-OMS, in milligrammi per chilogrammo di massa corporea,

M = massa corporea in chilogrammi (60 kg),

MDD_{HD} = dose giornaliera di droga vegetale in chilogrammi.

I limiti di pesticidi nelle preparazioni a base di droghe vegetali sono calcolati usando le seguenti espressioni:

Se $DER \leq 10$:

$$MRL_{HD} DER$$

Se $DER > 10$:

$$\frac{ADI \times M}{MDD_{HP} \times 100}$$

MRL_{HD} = limite massimo di residuo del pesticida nella droga vegetale come riportato nella tabella 2.8.13.-1 o nelle direttive della UE o calcolato usando l'espressione sopra riportata;

DER = rapporto droga/estratto, cioè il rapporto tra la quantità di droga vegetale usata nella fabbricazione della preparazione a base di droghe vegetali e la quantità di preparazione ottenuta;

MDD_{HP} = dose giornaliera di preparazione a base di droga vegetale, in chilogrammi.

L'Autorità competente può concedere una dispensa parziale o totale del saggio se la storia completa (natura e quantità dei pesticidi utilizzati, data di ciascun trattamento effettuato durante la coltivazione e dopo il raccolto) del trattamento del lotto è nota e può essere controllata con precisione d'accordo con la buona pratica agricola e di raccolto (GACP).

Tabella 2.8.13.-1.

Sostanza	Limiti (mg/kg)
Acefato	0,1
Alaclor	0,05
Aldrin e dieldrin (somma di)	0,05
Azinfos-etile	0,1
Azinfos-metile	1
Bromuri inorganici (calcolati come ione bromuro)	50
Bromofos-etile	0,05
Bromofos-metile	0,05
Bromopropilato	3
Cipermetrina e isomeri (somma di)	1
Clordano (somma di <i>cis</i> -, <i>trans</i> - e ossi-clordano)	0,05
Clorfenvinfos	0,5
Clorpirifos-etile	0,2
Clorpirifos-metile	0,1
Clorthal-dimetile	0,01
Ciflutrin (somma di)	0,1
λ-Cialotrin	1

Residui di pesticidi

Sostanza	Limiti (mg/kg)
DDT (somma di <i>o,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDT, <i>o,p'</i> -DDT, <i>o,p'</i> -TDE e <i>p,p'</i> -TDE)	1
Deltametrina	0,5
Diazinone	0,5
Diclofluanide	0,1
Diclorvos	1
Dicofol	0,5
Dimetoato e ometoato (somma di)	0,1
Ditiocarbammato (come CS ₂)	2
Endosulfano (somma di isomeri e endosulfano solfato)	3
Endrin	0,05
Eptacloro (somma di eptacloro, <i>cis</i> -eptacloroposside e <i>trans</i> -eptacloroposside)	0,05
Esaclorocicloesano (somma di isomeri α -, β -, δ -, ed ϵ)	0,3
Esaclorobenzene	0,1
Etion	2
Etrimfos	0,05
Fenclorofos (somma di fenclorofos e fenclorofos-ossone)	0,1
Fenitroton	0,5
Fenpropatrin	0,03
Fensulfotion (somma di fensulfotion, fensulfotion-ossone, fensulfotion-ossone-sulfone e fensulfotion-sulfone)	0,05
Fention (somma di fention, fention-ossone, fention-ossone-sulfone, fention-ossone-sulfosside, fention-sulfone e fention-sulfosside)	0,05
Fenvalerato	1,5
Flucitrinato	0,05
τ -Fluvalinato	0,05
Fonofos	0,05
Fosalone	0,1
Fosmet	0,05
Lindano (γ -esaclorocicloesano)	0,6
Malation e malaossone (somma di)	1
Mecarbam	0,05
Metacrifos	0,05
Metamidofos	0,05
Metidation	0,2
Metossicloro	0,05
Mirex	0,01
Monocrotofos	0,1
Paration-etile e Paraossone-etile (somma di)	0,5
Paration-metile e Paraossone-metile (somma di)	0,2
Pendimetalin	0,1
Pentacloranisolo	0,01
Permetrina e isomeri (somma di)	1

Piperonil butossido		3
Sostanza	Limiti (mg/kg)	
Pirimifos-etile	0,05	
Pirimifos-metile (somma di pirimifos-metile e <i>N</i> -desetil-pirimifos-metile)	4	
Procimidone	0,1	
Profenofos	0,1	
Protiofos	0,05	
Piretro (somma di cinerina I, cinerina II, jasmolina I, jasmolina II, piretrina I e piretrina II)	3	
Quinalfos	0,05	
Quintozene (somma di quintozene, pentacloroanilina e metile pentaclorofenil solfuro)	1	
S-421	0,02	
Tecnazene	0,05	
Tetradifon	0,3	
Vinclozolin	0,4	

Campionamento delle droghe vegetali. Il campionamento viene effettuato secondo quanto descritto nel capitolo generale 2.8.20. *Droghe vegetali: campionamento e preparazione del campione.*

Analisi qualitativa e quantitativa dei residui di pesticidi. I procedimenti analitici utilizzati devono essere con-validati (per es. secondo il Documento N° SANCO/10232/2006). In particolare, soddisfano ai seguenti criteri:

- il metodo scelto, ed in particolare le fasi di purificazione, è idoneo per la combinazione residui di pesticidi/sostanza in esame e non è suscettibile ad interferenza dovuta a sostanze estratte contemporaneamente;
- la naturale presenza di alcuni costituenti viene presa in considerazione nella interpretazione dei risultati (per es. i disolfuri dalle Crucifere);
- la concentrazione delle soluzioni in esame e delle soluzioni di riferimento e la taratura dell'apparecchio sono tali che le risposte utilizzate per la quantificazione dei residui di pesticidi sono comprese nell'intervallo di misura del rivelatore. Le soluzioni da esaminare contenenti dei residui di pesticidi ad una concentrazione non compresa nell'intervallo di misura possono essere diluite entro l'intervallo di calibrazione a condizione che la concentrazione della matrice nella soluzione sia "aggiustata" quando le soluzioni per la calibrazione sono adattate alla matrice;

- ciascun pesticida è recuperato in quantità tra il 70 per cento e il 110 per cento,
- ripetibilità del metodo: la DSR non deve essere superiore al valore indicato nella Tabella 2.8.13.-2,
- riproducibilità del metodo: la DSR non deve essere superiore al valore indicato nella Tabella 2.8.13.-2.

Tabella 2.8.13.-2

Intervallo di concentrazione del pesticida (mg/kg)	Ripetibilità (DSR) (per cento)	Riproducibilità (DSR) (per cento)
0,001 – 0,01	30	60
> 0,01 – 0,1	20	40
> 0,1 – 1	15	30
> 1	10	20

2.8.14. DETERMINAZIONE DEI TANNINI NELLE DROGHE VEGETALI

Effettuare tutte le operazioni di estrazione e di diluizione al riparo dalla luce.

Nel caso di droga o di estratto secco aggiungere 150 ml di *acqua R* alla quantità indicata della droga polverizzata (180) (2.9.12) o dell'estratto in un pallone a fondo tondo da 250 ml. Scaldare a b.m. per 30 min. Raffreddare sotto acqua corrente e trasferire quantitativamente in un pallone tarato da 250 ml. Lavare il pallone a fondo tondo e riunire le acque di lavaggio nel pallone tarato, poi diluire a 250,0 ml con *acqua R*. Lasciar depositare i solidi e filtrare il liquido attraverso una carta da filtro di 125 mm di diametro. Scartare i primi 50 ml del filtrato.

Nel caso di estratto fluido o di tintura diluire la quantità indicata di estratto fluido o di tintura a 250,0 ml con *acqua R*. Filtrare la miscela attraverso una carta da filtro di 125 mm di diametro. Scartare i primi 50 ml del filtrato.

Polifenoli totali. Diluire 5,0 ml del filtrato a 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare 2,0 ml di questa soluzione con 1,0 ml di *fosfomolibdotungstico reattivo R* e 10,0 ml di *acqua R* e diluire a 25,0 ml con una soluzione (290 g/l) di *sodio carbonato R*. Dopo 30 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 760 nm (A_1), usando *acqua R* come liquido di compensazione.

Polifenoli non assorbiti dalla polvere di pelle. A 10,0 ml del filtrato aggiungere 0,10 g di *pelle polvere SCR* ed agitare energicamente per 60 min. Filtrare e diluire 5,0 ml del filtrato a 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare 2,0 ml di questa soluzione con 1,0 ml di *fosfomolibdotungstico reattivo R* e 10,0 ml di *acqua R* e

diluire a 25,0 ml con una soluzione (290 g/l) di *sodio carbonato R*. Dopo 30 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 760 nm (A_2), usando *acqua R* come liquido di compensazione.

Soluzione di riferimento. Disciogliere immediatamente prima dell'uso 50,0 mg di *pirogallolo R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml della soluzione a 100,0 ml con *acqua R*. Mescolare 2,0 ml di questa soluzione con 1,0 ml di *fosfomolibdotungstico reattivo R* e 10,0 ml di *acqua R* e diluire a 25,0 ml con una soluzione (290 g/l) di *sodio carbonato R*. Dopo 30 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 760 nm (A_3), usando *acqua R* come liquido di compensazione.

Calcolare il contenuto percentuale di tannini espresso come pirogallolo mediante l'espressione:

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

m_1 = massa del campione da esaminare in grammi,

m_2 = massa di pirogallolo in grammi.

2.8.15. INDICE DI AMAREZZA

L'indice di amarezza è l'inverso della diluizione di un composto, di un liquido o di un estratto che può essere identificata ancora come amara. E' determinato per confronto con chinina cloridrato, il cui indice di amarezza è fissato a 200000.

Determinazione del fattore di correzione

Si raccomanda di effettuare il saggio con un gruppo composto da almeno 6 persone. Bisogna sciacquare la bocca con *acqua R* prima dell'assaggio.

Per tenere conto delle singole differenze di percezione dell'amarezza nell'ambito del gruppo, è necessario determinare un fattore di correzione per ciascuna persona.

Soluzione madre. Disciogliere 0,100 g di *chinina cloridrato R* in *acqua R* e portare a 100,0 ml con lo stesso solvente. Prelevare 1,0 ml di questa soluzione e portare a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare una serie di diluizioni introducendo in una prima provetta 3,6 ml di soluzione madre aumentando progressivamente il volume di 0,2 ml nelle successive provette fino a raggiungere 5,8 ml nell'ultima provetta. Portare il contenuto di ciascuna provetta a 10,0 ml con *acqua R*.

Determinare come descritto di seguito la diluizione con la più bassa concentrazione giudicata ancora amara.

Droghe vegetali: determinazione della aflatoossina B₁

Portare nella bocca 10,0 ml della soluzione più diluita della serie e, per 30 s, far passare la soluzione da una parte all'altra della bocca al di sopra della lingua. Se la soluzione non è giudicata amara, espellerla e attendere 1 min; sciacquare la bocca con *acqua R* e dopo 10 min, utilizzare la soluzione a concentrazione immediatamente superiore.

Calcolare il fattore di correzione k per ciascun membro del gruppo mediante l'espressione:

$$k = \frac{n}{5,00}$$

n = numero di millilitri della soluzione madre contenuto nella diluizione con la più bassa concentrazione che è giudicata amara.

Le persone che non percepiscono il sapore amaro con la soluzione di riferimento preparata utilizzando 5,8 ml della soluzione madre sono esclusi dal gruppo.

Preparazione del campione

Polverizzare il campione (710) (2.9.12) se necessario. A 1,0 g del campione, aggiungere 100 ml di *acqua R* bollente. Scaldare a b.m. per 30 min agitando continuamente. Lasciar raffreddare e portare a 100 ml con *acqua R*. Agitare energicamente e filtrare scartando i primi 2 ml. Il filtrato rimanente è etichettato come C-1 e possiede un fattore di diluizione (FD) di 100.

Se la preparazione in esame è un liquido, prelevarne 1 ml e diluire a 100 ml con un solvente adatto. Questa soluzione è etichettata come C-1.

Determinazione dell'indice di amarezza

Soluzioni in esame:

10,0 ml di C-1 diluiti a 100 ml (FD = 1000)
con *acqua R*: C-2

10,0 ml di C-2 diluiti a 100 ml (FD = 10000)
con *acqua R*: C-3

20,0 ml di C-3 diluiti a 100 ml (FD = 50000)
con *acqua R*: C-3A

10,0 ml di C-3 diluiti a 100 ml (FD = 100000)
con *acqua R*: C-4

Iniziando con la diluizione C-4 ciascun membro del gruppo determina la prima delle diluizioni che presenta un sapore amaro. Questa soluzione è etichettata D. Indicare come Y il fattore di diluizione (FD) della soluzione D.

Iniziando dalla soluzione D, preparare la serie delle diluizioni seguenti:

Soluzione D (ml)	1,2	1,5	2,0	3,0	6,0	8,0
<i>Acqua R</i> (ml)	8,8	8,5	8,0	7,0	4,0	2,0

Determinare il numero di millilitri a partire dalla soluzione D che, dopo la diluizione a 10,0 ml con *acqua R*, presenta ancora un sapore amaro (X).

Calcolare l'indice di amarezza per ciascun membro del gruppo mediante l'espressione:

$$\frac{Y \times k}{X \times 0,1}$$

Calcolare l'indice di amarezza del campione in esame come valore medio dei valori riscontrati da ciascun membro del gruppo.

2.8.16. RESIDUO SECCO DEGLI ESTRATTI

Introdurre rapidamente 2,00 g o 2,0 ml dell'estratto in esame in una capsula a fondo piatto del diametro di circa 50 mm e con un'altezza di circa 30 mm. Evaporare a secco a b.m. ed essiccare in stufa a 100-105 °C per 3 h. Lasciar raffreddare in un essiccatore su *anidride fosforica R* o *gel di silice anidra R* e pesare. Calcolare il risultato come percentuale in massa o in grammi per litro.

2.8.17. PERDITA ALL'ESSICCAMENTO DEGLI ESTRATTI

Pesare rapidamente 0,50 g dell'estratto in esame, finemente polverizzato, in una capsula a fondo piatto del diametro di circa 50 mm e con un'altezza di circa 30 mm. Essiccare in stufa a 100-105 °C per 3 h. Lasciar raffreddare in un essiccatore su *anidride fosforica R* o su *gel di silice anidra R* e pesare. Calcolare il risultato come percentuale in massa.

2.8.18. DROGHE VEGETALI: DETERMINAZIONE DELLA AFLATOSSINA B₁

Avvertenza: Le aflatoossine sono sostanze molto tossiche e cancerogene. Manipolare i campioni sotto cappa d'estrazione, quando possibile. Prendere particolari precauzioni, come l'impiego di un "glove box", quando le tossine si trovano sotto forma secca solida in quanto altamente elettrostatiche e con la tendenza a disperdersi facilmente nell'area di lavoro. Procedure di decontaminazione per rifiuti

di laboratorio contenenti aflatoossine sono state sviluppate dall'International Agency for Research on Cancer (IARC).

Le aflatoossine sono micotossine naturali prodotte principalmente da *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Questi sono funghi assai diffusi in natura e si trovano principalmente quando certi cereali crescono in condizioni di stress come la siccità. Le muffe si trovano nei terreni, fieno, vegetazione e cereali in fase di decomposizione microbica ed invadono ogni tipo di substrato organico quando le condizioni sono favorevoli alla loro crescita come nel caso di alta umidità e temperatura elevata. In natura si trovano almeno 13 differenti aflatoossine e la maggior parte di queste sono altamente tossiche e cancerogene. L'aflatoossina B₁ è considerata la più tossica. Le droghe vegetali che sono soggette a contaminazione da aflatoossine devono essere controllate con un metodo convalidato.

Se non diversamente indicato nella monografia, le droghe vegetali non devono contenere più di 2 µg/Kg di aflatoossina B₁. Le Autorità competenti possono inoltre richiedere la conformità con il limite di 4 µg/Kg per la somma delle aflatoossine B₁, B₂, G₁ e G₂.

Il metodo descritto di seguito è un esempio di un metodo che è stato dimostrato applicabile per le radici dell'artiglio del Diavolo, lo zenzero e i frutti di senna. L'applicabilità di questo metodo per altre droghe vegetali deve essere dimostrata o può essere utilizzato alternativamente un altro metodo convalidato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Cromatografia liquida (2.2.29).

Le aflatoossine si degradano per esposizione alla luce. Effettuare l'analisi in assenza di luce solare, oscurando le finestre con filtri UV, e utilizzando luce artificiale (luce al neon è accettabile). Proteggere le soluzioni di aflatoossine dalla luce solare.

Lavare la vetreria prima dell'uso con una soluzione al 10 per cento V/V di *acido solforico R* e successivamente sciacquare con *acqua distillata R* fino ad eliminare tutto l'acido.

Soluzione in esame. Utilizzare una colonna di immunoaffinità contenente anticorpi contro l'aflatoossina B₁ con una capacità di carico di almeno 100 ng di aflatoossina B₁ e che assicuri un recupero di non meno dell'80 per cento quando viene passata attraverso di essa una soluzione di 5 ng di aflatoossina B₁ solubilizzata in una

miscela di 12,5 ml di *metanolo R* e 87,5 ml di *acqua R*. Portare la colonna di immunoaffinità a temperatura ambiente. A 5,00 g di droga polverizzata (500) (2.9.12) aggiungere 100 ml di una miscela di 30 volumi di *acqua R* e 70 volumi di *metanolo R* ed estrarre in un bagno ad ultrasuoni per 30 min. Filtrare attraverso un filtro di carta a pieghe. Prelevare 10,0 ml del filtrato limpido e trasferirli in una beuta da 150 ml. Aggiungere 70 ml di *acqua R*. Passare 40 ml di questa soluzione attraverso la colonna di immunoaffinità con un flusso di 3 ml/min (non si oltrepassino i 5 ml/min). Lavare la colonna con 2 volumi, ciascuno di 10 ml, di *acqua R* con un flusso inferiore ai 5 ml/min e seccare applicando un leggero vuoto per 5-10 s oppure iniettando aria per 10 s con una siringa. Eluire con 0,5 ml di *metanolo R* per gravità. Raccogliere l'eluato in un matraccio da 5 ml. Dopo 1 min, eluire con una seconda aliquota di 0,5 ml di *metanolo R* e ripetere la procedura con una terza aliquota di 0,5 ml di *metanolo R*. Raccogliere la maggior parte del solvente iniettando aria attraverso la colonna o applicando il vuoto. Diluire 5 ml con *acqua R* e agitare. Se la soluzione è limpida può essere usata direttamente per l'analisi. Altrimenti filtrare prima di iniettare. Utilizzare un filtro monouso (per es. un filtro in politetrafluoroetilene con porosità di 0,45 µm) che non provochi perdite di aflatoossina adsorbendola.

Soluzione madre primaria di aflatoossina B₁. Sciogliere *aflatoossina B₁ R* in una miscela di 2 volumi di *acetone nitrile R* e 98 volumi di *toluene R* in modo da ottenere una soluzione di 10 µg/ml di aflatoossina B₁. Determinare l'esatta concentrazione di aflatoossina B₁ nella soluzione madre primaria registrando la curva di assorbimento (2.2.25) tra 330 nm e 370 nm in una cella al quarzo. Calcolare la concentrazione in massa della aflatoossina B₁, in microgrammi per millilitro, usando la seguente formula:

$$\frac{A \times M \times 100}{\epsilon \times l}$$

A = assorbanza determinata al massimo della curva di assorbimento;

M = massa molecolare della aflatoossina B₁ (312 g/mole);

ε = coefficiente di assorbimento molare della aflatoossina B₁ nella miscela toluene-acetonitrile (1930 m²/mole);

l = lunghezza del percorso ottico della cella (1 cm).

Droghe vegetali: determinazione della aflatossina B₁

Soluzione madre secondaria di aflatossina B₁. Preparare una soluzione madre secondaria contenente 100 ng/ml di aflatossina B₁ per diluizione della soluzione madre primaria con una miscela di 2 volumi di *acetone R* e 98 volumi di *toluene R*. Ricoprire il matraccio con un foglio di alluminio e conservarlo a temperatura inferiore ai 4 °C. Prima dell'uso, non rimuovere il foglio di alluminio fino a che la soluzione non ha raggiunto la temperatura ambiente. Se la soluzione deve essere conservata per un lungo periodo (per es. 1 mese), pesare il matraccio e registrarne la massa prima e dopo ogni utilizzo della soluzione.

Soluzioni di riferimento di aflatossina B₁. Prelevare i volumi di soluzione madre secondaria di aflatossina B₁ indicati nella tabella 2.8.18.-1 e trasferirli, ciascuno, in palloni tarati da 250 ml. Evaporare il solvente sotto flusso di azoto a temperatura ambiente. In ogni matraccio, aggiungere 75 ml di *metanolo R*, sciogliere l'aflatossina B₁ e diluire a 250 ml con *acqua R*.

Tabella 2.8.18.-1.
Soluzioni di riferimento di aflatossina B₁

Soluzione di riferimento	Volume di soluzione madre secondaria (µl)	Concentrazione finale della soluzione di riferimento (ng/ml)
1	125	0,05
2	250	0,1
3	500	0,2
4	750	0,3
5	1000	0,4

Curva di calibrazione. Costruire la curva di calibrazione utilizzando le soluzioni di riferimento da 1 a 5 che coprono un intervallo di concentrazione equivalente a 1-8 µg/kg di aflatossina B₁ nel materiale vegetale. Verificare la linearità della curva.

Se il contenuto di aflatossina B₁ nel campione da esaminare si colloca fuori dall'intervallo di taratura, diluire la soluzione in esame fino a che la concentrazione di aflatossina sia compatibile con la curva di taratura stabilita.

Colonna:

- *dimensioni:* l = 0,25 m Ø = 4,6 mm,
- *fase stazionaria:* gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm).

Fase mobile:

- *fase mobile A* (derivatizzazione post-colonna mediante reazione fotochimica o con piridinio bromuro): una miscela costituita da 2 volumi di *acetone R*, 3 volumi di *metanolo R* e 6 volumi di *acqua R*,
- *fase mobile B* (derivatizzazione post-colonna mediante bromo ottenuto per via elettrochimica): aggiungere 0,12 g di *potassio bromuro R* e 350 µl di *acido nitrico diluito R1* per litro di fase mobile A.

Flusso: 1 ml/min.

Rivelazione: rivelatore fluorimetrico con filtro di eccitazione a 360 nm e filtro di emissione a soglia di taglio a 420 nm o equivalente. Per i rivelatori regolabili, le impostazioni raccomandate sono di 365 nm (lunghezza d'onda di eccitazione) e 435 nm (lunghezza d'onda di emissione).

Iniezione: 500 µl.

Derivatizzazione post-colonna con piridinio idrobromuro perbromuro (PBPB):

- pompa senza pulsazioni;
- raccordo a T a volume morto nullo;
- reattore in politetrafluoroetilene lungo 0,45 m e con diametro interno di 0,5 mm;
- fase mobile A;
- reagente per derivatizzazione post-colonna: sciogliere 50 mg di *piridinio idrobromuro perbromuro R* in 1000 ml di *acqua R* (conservare al riparo dalla luce e utilizzare entro 4 giorni dalla preparazione);
- flusso del reagente di derivatizzazione: 0,4 ml/min.

Derivatizzazione post-colonna in reattore fotochimico (PHRED):

- reattore munito di lampada UV a mercurio a bassa pressione, operante a 254 nm (potenza minima 8 W);
- piatto di supporto lucido;
- reattore a spire intrecciate: reattore in politetrafluoroetilene lungo 25 m e con diametro interno di 0,25 mm, strettamente calzato attorno alla lampada UV (volume nominale 1,25 ml);
- tempo di esposizione: 2 min;
- fase mobile A.

Derivatizzazione post-colonna con bromo prodotto elettrochimicamente (KOBRA):

- cella-KOBRA: cella elettrochimica che genera bromo attivo per la derivatizzazione delle aflatossine, effettuata al fine di aumentarne la fluorescenza; disponibile presso diversi fornitori;
- fonte di corrente diretta in serie con le celle-KOBRA, capace di produrre una corrente costante di circa 100 μ A;
- reattore in politetrafluoroetilene lungo 0,12 m e con diametro interno di 0,25 mm;
- fase mobile B.

Ordine di eluizione: aflatossina G₂, aflatossina G₁, aflatossina B₂, aflatossina B₁.

Calcoli: calcolare la curva di calibrazione $y = ax + b$, con la concentrazione dell'aflatossina B₁ espressa in ng/ml sull'asse delle x e il segnale (S) sull'asse delle y . La concentrazione dell'aflatossina B₁ (C) in una soluzione in esame è uguale a $\frac{S-b}{a}$

Calcolare il contenuto dell'aflatossina B₁ nella droga vegetale, in nanogrammi per grammo, utilizzando la seguente formula:

$$\frac{V_1 \times V_2 \times C}{m \times V_i}$$

m = massa del materiale vegetale, in grammi;

V_1 = volume del solvente utilizzato per l'estrazione, in millilitri;

V_i = aliquota prelevata per la purificazione su colonna di immunoaffinità, in millilitri;

V_2 = volume finale della soluzione dopo eluizione attraverso colonna di immunoaffinità e successiva diluizione, in millilitri;

C = concentrazione dell'aflatossina B₁ misurata nella soluzione in esame, in nanogrammi per millilitro.

La presenza di aflatossina B₁ può essere confermata registrando il cromatogramma senza la derivatizzazione post-colonna; questa infatti dà luogo ad una forte diminuzione (più grande di 10 volte) della risposta dovuta alla aflatossina B₁.

2.8.20. DROGHE VEGETALI: CAMPIONAMENTO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Per ridurre l'effetto del campionamento sui risultati dell'analisi qualitativa e quantitativa, è necessario assicurarsi che la composizione del campione usato sia rappresentativa di quella del lotto del materiale in esame. I procedimenti descritti di seguito costituiscono le esigenze minimali applicabili alle droghe vegetali: *NOTA: altri procedimenti possono essere utilizzati se può essere dimostrato che essi permettono di ottenere campioni rappresentativi del lotto.*

CAMPIONE in "BULK"

Quando l'esame esterno dei contenitori, del nome dei produttori, (delle marche) e delle etichette di un lotto indicano che esso può essere considerato omogeneo, effettuare il campionamento sul numero di contenitori, presi a caso, indicati di seguito. Quando un lotto non può essere considerato omogeneo dividerlo in sotto-lotti il più omogenei possibile, successivamente effettuare il campionamento su ogni sotto-lotto come per un lotto omogeneo utilizzando il minimo numero di contenitori selezionati a caso indicati di seguito.

Numero di contenitori nel lotto (N)	Numero di contenitori da campionare (n)
1 - 3	tutti
> 3	$n^* = \sqrt{N} + 1$

* n arrotondato al numero intero immediatamente superiore

Prelevare un campione da ogni contenitore da campionare. Il campione è prelevato dalla parte superiore, media o inferiore del contenitore, in modo tale che il campione prelevato sia rappresentativo delle diverse

Droghe vegetali: campionamento e preparazione del campione

parti dei contenitori. Se i contenitori sono balle o sacchi di grandi dimensioni, i campioni devono essere prelevati da una profondità di almeno 10 cm. La massa del materiale prelevato da ogni contenitore è tale che la massa totale del campione in “bulk” soddisfa ai valori seguenti.

Massa di droga vegetale nel lotto (kg)	Massa minima di campioni in percentuale della massa del lotto di droga vegetale
< 50	1,00*
50–100	0,50
> 100–250	0,25
> 250–500	0,20
> 500–1000	0,18
> 1000–2500	0,15
> 2500–5000	0,10
> 5000–10000	0,08
> 10000–25000	0,05

NOTA: Se la massa del lotto è superiore a 25000 kg, viene divisa in sotto-lotti e il procedimento si applica a ogni sotto-lotto come se si trattasse di un lotto omogeneo.

* con un minimo di 125 g per la massa totale del campione in bulk. Se questa massa minima rappresenta più del 10,0 per cento della massa di droga vegetale contenuta nel lotto, l'intero lotto può essere utilizzato come campione.

Preparare il campione in bulk riunendo e mescolando accuratamente i campioni prelevati da ognuno dei contenitori selezionati a caso (vedi tabella 2.8.20.-1).

CAMPIONE IN ESAME

Se non diversamente prescritto nella monografia, preparare il campione in esame come segue.

Ridurre la grandezza del campione in bulk mediante il metodo della “quarta parte” (vedi NOTA a margine) o con ogni altro metodo che produca un campione omogeneo, assicurandosi che ogni porzione prelevata rimanga rappresentativa dell'insieme, fino a che la minima quantità prelevata sia conforme alle condizioni di seguito riportate.

Tipo di droga vegetale	Peso minimo del campione in esame
Radici, rizomi, scorze, piante intere	500 g o la massa dell'intero campione se il campione in bulk è inferiore a 500 g.
Foglie, fiori, semi, frutti	250 g o la massa dell'intero campione se il campione in bulk è inferiore a 250 g
Droghe rotte o frammentate (massa media dei frammenti inferiore a 0,5 g)	125 g

NOTA: il metodo della “quarta parte” consiste nel collocare il bulk del campione, accuratamente miscelato, in modo da formare un quadrato di livello regolare e dividendolo diagonalmente in 4 parti uguali. 2 quarti opposti sono prelevati e rimiscelati accuratamente. Il processo si ripete se necessario fino ad ottenere la massa minima richiesta per il campione da esaminare.

Procedere alla macinazione del campione in esame in un solo passaggio attraverso un setaccio da 1 mm o delle dimensioni specificate nella monografia. Si raccomanda l'uso di una macchina per macinare.

Far passare il campione macinato attraverso un setaccio standard da 1 mm oppure il setaccio specificato nella monografia. Il residuo trattenuto sul setaccio non deve superare il 10 per cento della massa totale del campione macinato e in questo residuo non più del 2 per cento della massa totale del campione macinato può essere di una dimensione particellare superiore a 1,5 mm o 1,5 volte la dimensione particellare specificata nella monografia. Se queste condizioni sono soddisfatte, il campione e il residuo devono essere ben mescolati per formare il campione in esame da analizzare.

Nei casi in cui questi requisiti non sono soddisfatti, il campione da esaminare è costituito dalle due parti trattate separatamente. La quantità di campione richiesta per ogni analisi è pertanto ottenuta pesando quantità proporzionali della polvere e del residuo.

NOTA: per la determinazione dei caratteri microscopici, una porzione di campione in esame macinato è rimacinata attraverso un setaccio con maglie da 0,355 mm.

Droghe vegetali: campionamento e preparazione del campione

Tabella 2.8.20.-1.

Operazioni della procedura di campionamento da utilizzare per ottenere il prescritto campione in "bulk".

Massa di droga vegetale nel contenitore (kg)	0,5			1			5		
	N. di contenitori nel lotto	N. di contenitori da campionare	Massa totale dei campioni (g)	N. di contenitori nel lotto	N. di contenitori da campionare	Massa totale dei campioni (g)	N. di contenitori nel lotto	N. di contenitori da campionare	Massa totale dei campioni (g)
0,5	1	1	125	-	-	-	-	-	-
1	2	2	125	1	1	125	-	-	-
5	10	5	125	5	4	125	1	1	125
10	20	6	125	10	5	125	2	2	125
25	-	-	-	25	6	250	5	4	250
100	-	-	-	100	11	500	20	6	500
250	-	-	-	-	-	-	50	9	625
500	-	-	-	-	-	-	100	11	1000
Massa di droga vegetale nel contenitore (kg)	25			125			500		
Massa totale di droga vegetale nel lotto (kg)	N. di contenitori nel lotto	N. di contenitori da campionare	Massa totale dei campioni (g)	N. di contenitori nel lotto	N. di contenitori da campionare	Massa totale dei campioni (g)	N. di contenitori nel lotto	N. di contenitori da campionare	Massa totale dei campioni (g)
25	1	1	250	-	-	-	-	-	-
100	4	3	500	-	-	-	-	-	-
250	10	5	625	2	2	625	-	-	-
500	20	6	1000	4	3	1000	1	1	1000
1000	40	8	1800	8	4	1800	2	2	1800
2000	80	10	3000	16	5	3000	4	3	3000
3000	120	12	3000	24	6	3000	6	4	3000
5000	200	16	5000	40	8	5000	10	5	5000
10 000	400	21	8000	80	10	8000	20	6	8000
25 000	800	30	12 500	160	14	12 500	40	8	12 500

2.9. Saggi e procedimenti tecnologici

2.9.	Saggi e procedimenti tecnologici . . .	339	2.9.22.	Determinazione del tempo di ram-	390
2.9.1.	Disaggregazione delle compresse e	339	2.9.23.	Densità dei solidi mediante	391
2.9.2.	Disaggregazione delle supposte e	340	2.9.25.	Saggio di dissoluzione per le gomme	392
2.9.3.	Saggio di dissoluzione per le forme	343	2.9.26.	Area superficiale specifica mediante	395
2.9.4.	Saggio di dissoluzione per i cerotti	354	2.9.27.	Uniformità di massa delle dosi rila-	399
2.9.5.	Uniformità di massa delle forme far-	356	2.9.29.	Dissoluzione intrinseca	399
2.9.6.	Uniformità di contenuto delle forme	357	2.9.31.	Analisi delle dimensioni delle parti-	402
2.9.7.	Friabilità delle compresse non rive-	358	2.9.32.	Porosità e distribuzione della dimen-	407
2.9.8.	Resistenza alla rottura delle com-	359	2.9.33.	Caratterizzazione dei solidi cristallini	410
2.9.9.	Misura della consistenza per pene-	359	2.9.34.	Densità d'insieme (bulk density) e	417
2.9.10.	Contenuto di etanolo e tabelle alcoo-	361	2.9.35.	Finezza delle polveri	420
2.9.11.	Saggio per metanolo e 2-propanolo	363	2.9.36.	Scorrimento delle polveri.	421
2.9.12.	Classificazione granulometrica delle	363	2.9.37.	Microscopia ottica.	426
2.9.14.	Area superficiale specifica per per-	364	2.9.38.	Distribuzione delle dimensioni delle	429
2.9.15.	Volume apparente	365	2.9.40.	Uniformità delle unità di dosaggio .	434
2.9.16.	Scorrimento.	367	2.9.41.	Friabilità di granuli e sferoidi	438
2.9.17.	Saggio per il volume estraibile delle	368	2.9.42.	Saggio di dissoluzione per le forme	440
2.9.18.	Preparazioni per inalazione: valuta-	369	2.9.43.	Dissoluzione apparente	441
2.9.19.	Contaminazione particellare: parti-	386			
2.9.20.	Contaminazione particellare: parti-	389			

2.9. SAGGI E PROCEDIMENTI TECNOLOGICI

2.9.1. DISAGGREGAZIONE DELLE COMPRESSE E DELLE CAPSULE

Questo saggio è destinato a determinare se le compresse o le capsule, quando sono poste in un mezzo liquido nelle condizioni sperimentali di seguito indicate, si disaggregano entro il tempo prescritto.

Per lo scopo di questo saggio, la disaggregazione non implica la completa dissoluzione dell'unità della forma farmaceutica sottoposta al saggio o quella del suo componente attivo. Per definizione, la disaggregazione è completa quando tutto il residuo è costituito da una massa molle, senza nucleo palpabile duro, con l'eccezione di frammenti insolubili del rivestimento o dell'involucro delle capsule che possono rimanere sulla rete del cestello o, se si è utilizzato il disco, aderenti alla faccia inferiore del disco stesso.

Utilizzare l'apparecchiatura A per compresse e capsule non superiori a 18 mm di lunghezza. Per compresse o capsule più grandi, utilizzare l'apparecchiatura B.

SAGGIO A - COMPRESSE E CAPSULE DI DIMENSIONE NORMALE

Apparecchiatura. L'apparecchio è composto da un cestello porta tubi, da un becher cilindrico basso, della capacità di un litro e destinato a contenere il liquido di immersione, avente una altezza di 149 ± 11 mm ed un diametro interno di 106 ± 9 mm, da un sistema termostatico che permetta di mantenere il liquido ad una temperatura compresa tra 35°C e 39°C e da un dispositivo per alzare ed abbassare alternativamente il cestello nel liquido di immersione ad una frequenza costante compresa tra 29 e 32 cicli per minuto e per una ampiezza di 55 ± 2 mm. Il volume del liquido nel becher è regolato in modo che la rete metallica sia, al punto più alto della corsa, almeno 15 mm sotto la superficie del liquido e, al punto più basso della corsa sia almeno a 25 mm sopra il fondo del becher. In nessun momento la parte alta del cestello deve essere sommersa. I tempi di salita e discesa sono uguali, ed il cambio di senso va effettuato secondo una transizione progressiva, piuttosto che con una variazione brusca. Il cestello porta tubi si muove verticalmente lungo il suo asse, senza movimento orizzontale o deviazione apprezzabile dell'asse rispetto alla verticale.

Cestello porta tubi. Il cestello sostiene sei tubi trasparenti, aperti alle estremità. Ciascun tubo è lungo $77,5 \pm 2,5$ mm, ha un diametro interno di $21,85 \pm 1,15$ mm con pareti dello spessore di $1,9 \pm 0,9$ mm. I tubi

sono tenuti in posizione verticale da due dischi di 90 ± 2 mm di diametro e $6,75 \pm 1,75$ mm di spessore, ciascuno con sei fori del diametro di 24 ± 2 mm, equidistanti dal centro del disco ed equamente distanziati tra di loro. Sotto il disco inferiore è fissata una rete metallica costituita da fili in acciaio inossidabile del diametro di $0,615 \pm 0,045$ mm a tessitura semplice e maglie quadrate con apertura di $2,0 \pm 0,2$ mm. Le differenti parti dell'apparecchio sono tenute insieme e mantenute rigide da tre barre metalliche che attraversano i due dischi. Un dispositivo adeguato, posto sull'asse del cestello porta tubi, permette di sospenderlo al dispositivo meccanico in grado di sollevarlo ed abbassarlo.

La configurazione dell'apparecchio può presentare modifiche di dettaglio purché vengano rispettate le specifiche dimensionali dei tubi di vetro e della rete. Le dimensioni sono conformi alle specifiche riportate nella figura 2.9.1.-1

Dischi. L'impiego dei dischi è permesso solo quando specificato o autorizzato. Ciascun tubo viene in tal caso dotato di un disco cilindrico dello spessore di $9,5 \pm 0,15$ mm e diametro di $20,7 \pm 0,15$ mm, realizzato in adatta plastica trasparente avente densità di 1,18 - 1,20. Ciascun disco è attraversato da cinque fori paralleli di $2 \pm 0,1$ mm di diametro. Uno dei fori è posto al centro dell'asse del cilindro e gli altri sono posti a $6 \pm 0,2$ mm dall'asse, su immaginarie linee perpendicolari all'asse e parallele tra di loro. Sulla superficie laterale del disco sono intagliate quattro scanalature trapezoidali, identiche, quasi perpendicolari alle due basi del cilindro. Le scanalature hanno la forma di un trapezio simmetrico in cui i due lati paralleli coincidono con le basi del cilindro e sono parallele ad una linea immaginaria che collega i centri di due fori adiacenti tra quelli posti a 6 mm dall'asse. Il lato del trapezio visibile sulla faccia inferiore del cilindro è lungo $1,6 \pm 0,1$ mm ed il suo spigolo inferiore è arretrato di $1,6 \pm 0,1$ mm rispetto alla circonferenza del cilindro. Il lato del trapezio visibile sulla faccia superiore del cilindro è lungo $9,4 \pm 0,2$ mm ed il suo centro è arretrato di $2,6 \pm 0,1$ mm rispetto alla circonferenza del cilindro. Tutte le superfici del disco sono lisce.

Se è prescritto l'uso del disco, porre un disco in ciascun tubo ed utilizzare l'apparecchio come indicato a Metodo. I dischi sono conformi alle specifiche riportate in figura 2.9.1.-1.

L'impiego di un sistema automatico di rilevazione che utilizza dischi modificati è permesso quando l'uso dei dischi è specificato o autorizzato. Questi dischi devono soddisfare le specifiche di diametro e densità indicate in questo capitolo.

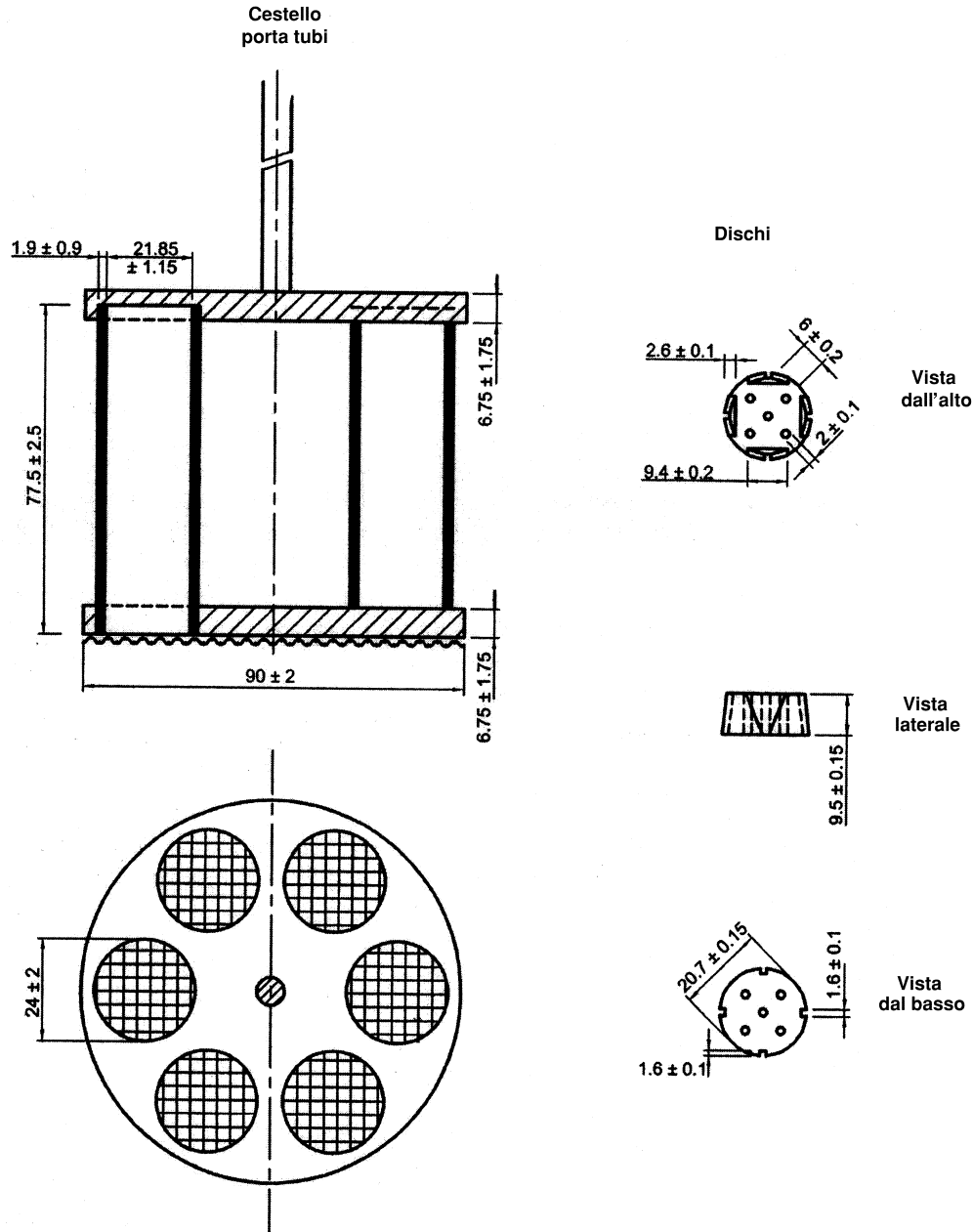


Figura 2.9.1-1. *Apparecchio A*
Dimensioni in millimetri

Metodo. Introdurre, in ciascuno dei sei tubi del cestello, una unità della forma farmaceutica in esame e, se prescritto, aggiungere un disco. Mettere in funzione l'apparecchio impiegando, come liquido di immersione, il mezzo specificato, mantenuto a 37 ± 2 °C. Trascorso il tempo indicato, sollevare il cestello dal liquido ed esaminare lo stato delle unità in esame. Tutte le unità devono essere completamente disaggregate. Se una o due unità non sono disaggregate, ripetere il saggio su ulteriori dodici unità. I requisiti del saggio sono soddisfatti se almeno sedici delle diciotto unità sottoposte al saggio sono disaggregate.

SAGGIO B - COMPRESSE E CAPSULE GRANDI

Apparecchiatura. La parte principale dell'apparecchio (vedi Figura 2.9.1.-2) è costituita da un sistema rigido a cestello che sostiene tre tubi cilindrici trasparenti lunghi $77,5 \pm 2,5$ mm, del diametro interno di $33,0 \pm 0,5$ mm e con pareti dello spessore di $2,5 \pm 0,5$ mm. Ciascun tubo è dotato di un disco cilindrico del diametro di $31,4 \pm 0,13$ mm e dello spessore di $15,3 \pm 0,15$ mm, realizzato in plastica trasparente con densità relativa

di 1,18 - 1,20. Ciascun disco ha sette fori del diametro di $3,15 \pm 0,1$ mm, uno al centro e gli altri sei disposti regolarmente su un cerchio del raggio di 4,2 mm dal centro del disco. I tubi sono tenuti verticali da due dischi rigidi di plastica, separati e sovrapposti, di 97 mm di diametro e 9 mm di spessore, con tre fori. I fori sono equidistanti dal centro del disco ed equamente distanziati tra di loro. Sotto il disco inferiore è fissata una rete metallica costituita da fili di acciaio inossidabile del diametro di $0,63 \pm 0,03$ mm e con apertura delle maglie di $2,0 \pm 0,2$ mm. I dischi sono tenuti rigidamente in posizione, ad una distanza di 77,5 mm, da barre metalliche verticali situate nella parte periferica; una barra metallica è anche fissata al centro del disco superiore per permettere di collegare il cestello ad un dispositivo mecca-

nico destinato ad alzarlo e abbassarlo in modo uniforme ad una frequenza costante compresa tra 29 e 32 cicli per minuto per un'ampiezza di 55 ± 2 mm. Il sistema è sospeso nel liquido indicato e in un adatto recipiente, preferibilmente un becher da un litro. Il volume del liquido è tale che, quando il cestello è nella posizione più alta, la rete è almeno 15 mm sotto la superficie del liquido e, quando è nella posizione più bassa, la rete è almeno 25 mm sopra la base del becher e le estremità superiori aperte dei tubi rimangono sopra la superficie del liquido. Un opportuno termostato mantiene la temperatura del liquido a 35-39 °C. Gli elementi meccanici descritti possono subire modifiche purché rimangano inalterate le caratteristiche descritte dei tubi e della rete.

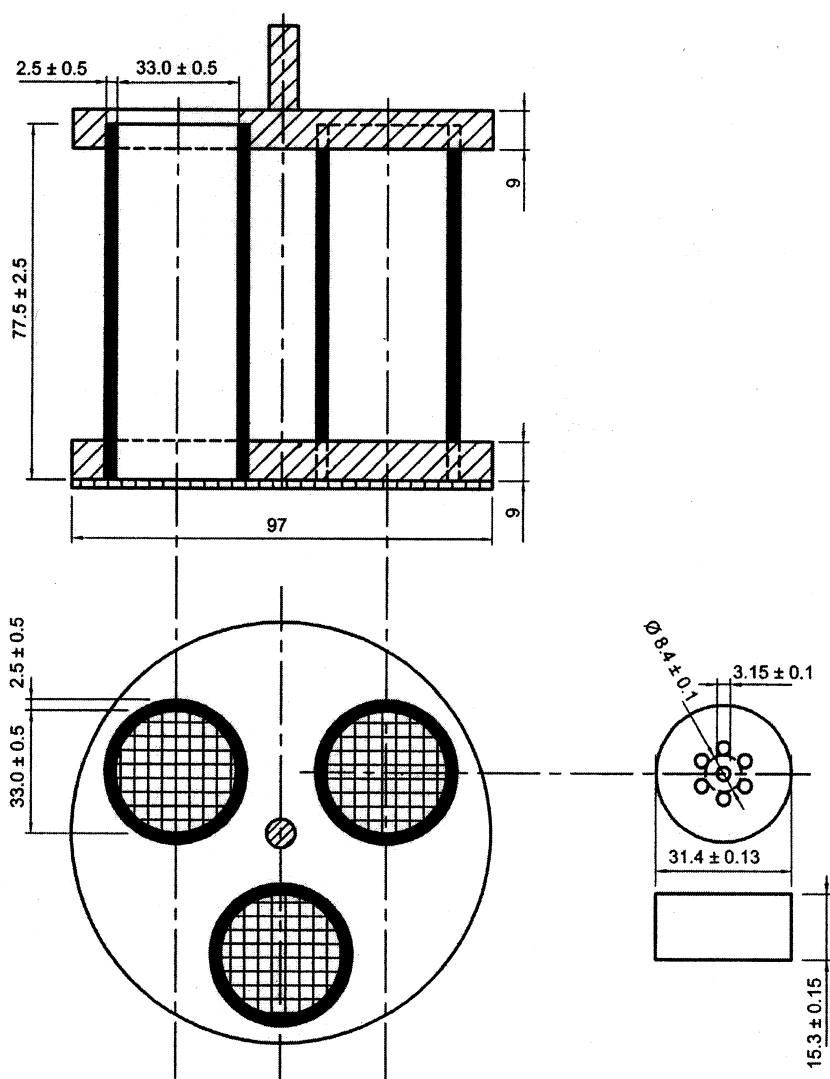


Figura 2.9.1.-2. *Apparecchiatura B*
Dimensioni in millimetri

Disaggregazione delle supposte e degli ovuli

Metodo. Esaminare sei compresse o capsule utilizzando due apparecchiature a cestello in parallelo oppure ripetendo il procedimento. Introdurre in ciascuno dei tre tubi una compressa o una capsula e aggiungere, se prescritto, un disco; sospendere il sistema nel becher contenente il liquido indicato. Mettere in funzione l'apparecchio per il tempo prescritto, sollevare il cestello e osservare lo stato delle compresse o delle capsule. Perché il saggio sia positivo, devono essersi disaggregate tutte le sei compresse o capsule.

2.9.2. DISAGGREGAZIONE DELLE SUPPOSTE E DEGLI OVULI

Questo saggio serve a determinare se le supposte o gli ovuli, quando posti in un mezzo liquido nelle condizioni sperimentali di seguito descritte, rammolliscono o si disaggregano entro il tempo prescritto.

La disaggregazione si considera raggiunta quando:

- la dissoluzione è completa,
- i componenti della supposta o dell'ovulo si separano: quelli grassi fusi alla superficie del liquido, le polveri insolubili al fondo e i componenti solubili si disciolgono. Secondo il tipo di preparazione, i componenti possono distribuirsi in uno o più di questi modi,
- si verifica un rammollimento del campione che può essere accompagnato da apprezzabile cambiamento della forma senza separazione completa dei componenti. Il rammollimento deve essere tale che la supposta o l'ovulo non abbiano più un nucleo solido che resiste alla pressione di una bacchetta di vetro,
- la rottura dell'involucro di gelatina di capsule rettali o vaginali consente la fuoriuscita del contenuto,
- non rimane alcun residuo sulla piastra perforata o, se rimane, esso è costituito solo da una massa molle o schiumosa senza nucleo solido che offra resistenza alla pressione di una bacchetta di vetro (compresse vaginali).

Apparecchiatura. L'apparecchio (Figura 2.9.2.-1) è costituito da un tubo di vetro o di adatta plastica trasparente, di appropriato spessore, all'interno del quale si inserisce, per mezzo di tre ganci, un dispositivo metallico consistente in due dischi di acciaio inossidabile perforati, ciascuno dei quali ha 39 fori del diametro di 4 mm; il diametro dei dischi è praticamente uguale a quello interno del tubo, i dischi sono distanziati di circa 30 mm. Il saggio si effettua usando tre apparecchi, ognuno dei quali contiene un singolo campione. Ciascun apparecchio si colloca, se non è diversamente prescritto, in un becher della capacità di almeno 4 litri, riempito con acqua mantenuta a 36-37 °C. Gli apparecchi possono anche essere posti insieme in un recipiente della capacità di almeno 12 litri. Il becher è dotato di un lento agitatore e di un dispositivo che terrà i cilindri verticali a

non meno di 90 mm sotto la superficie dell'acqua e consentirà di ruotarli di 180° attorno ad un'asse orizzontale senza farli uscire dall'acqua.

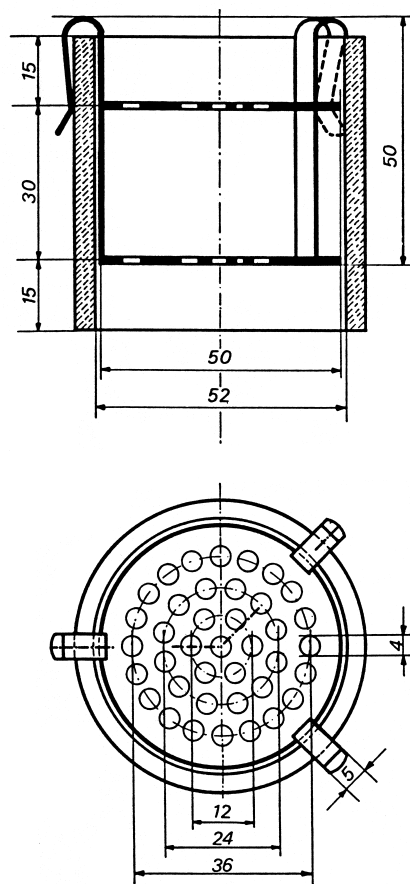


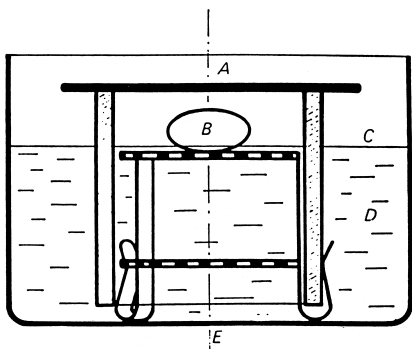
Figura 2.9.2. - 1.- *Apparecchio per la disaggregazione di supposte ed ovuli*
Dimensioni in millimetri

Metodo. Utilizzare tre supposte od ovuli. Collocare ognuno di essi sul disco inferiore di un apparecchio, porre quest'ultimo nel tubo e fissare. Invertire gli apparecchi ogni 10 min. Dopo il tempo indicato nella monografia, esaminare i campioni. Perché il saggio sia positivo, devono essersi disaggregati tutti i campioni.

MODO DI OPERARE PER LE COMPRESSE VAGINALI

Utilizzare l'apparecchiatura sopra descritta, disposta in modo che appoggi sui ganci (vedi Figura 2.9.2.-2). Porla in un becher di diametro appropriato contenente acqua mantenuta a 36-37 °C, con il livello appena sotto al disco perforato superiore. Con una pipetta aggiustare il livello con acqua a 36-37 °C fino a ricoprire con un lieve strato uniforme i fori del disco. Usare tre compresse vaginali. Porre ognuna di queste sul disco superiore di un apparecchio e coprire quest'ultimo con una lastra di vetro per mantenere condizioni appropriate di umidità. Trascorso

il tempo fissato nella monografia, esaminare lo stato dei campioni. Perché il saggio sia considerato positivo, tutti i campioni devono essersi disaggregati.



A. lastra di vetro
B. compressa vaginale
C. superficie dell'acqua
D. acqua
E. cristallizzatore, becher

Figura 2.9.2.-2

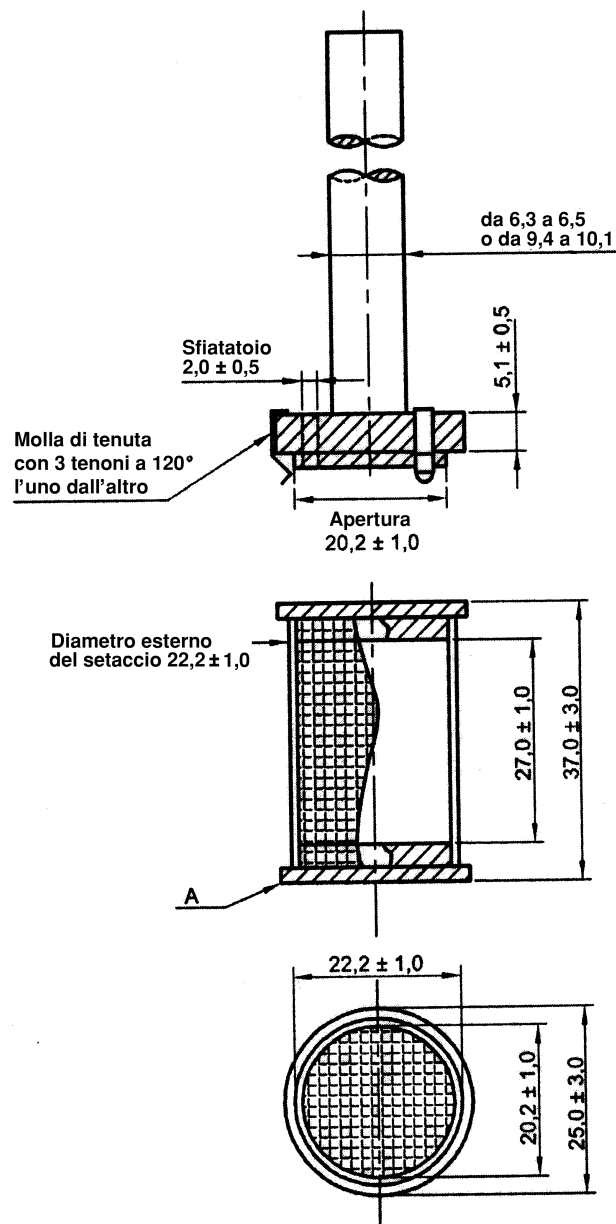
2.9.3. SAGGIO DI DISSOLUZIONE PER LE FORME FARMACEUTICHE SOLIDE

Questo saggio serve a determinare la corrispondenza di forme farmaceutiche solide orali ai requisiti di dissoluzione. In questo capitolo una unità della preparazione da controllare è intesa come una compressa/capsula o il numero indicato di compresse/capsule.

APPARECCHIATURA

Apparecchio 1 (apparecchio a cestello). L'apparecchio è composto da un recipiente, che può essere coperto, in vetro o altro materiale inerte e trasparente⁽¹⁾; un motore, un agitatore, costituito da una asta funzionante da albero motore, e da un cestello cilindrico. Il recipiente è parzialmente immerso in un bagno maria, termostato, di dimensione adeguata o è riscaldato da una adatta camicia riscaldante. Il bagno maria, o la camicia riscaldante, permettono di mantenere, durante il saggio, una temperatura di $37 \pm 0,5$ °C e di garantire un movimento fluido e costante del mezzo di dissoluzione. Nessuna parte dell'apparecchio, compreso l'ambiente in cui è posto, genera movimenti, agitazione o vibrazioni significative, eccetto quella dovuta alla rotazione regolare dell'agitatore. E' preferibile utilizzare un apparecchio che permetta di osservare, durante il saggio, la preparazione in esame e l'agitatore. Il recipiente è cilindrico, con fondo emisferico della capacità di un litro, la sua altezza è di 160–210 mm ed il diametro interno è di 98–106 mm; esso presenta una flangia su cui è possibile sistemare un adatto coperchio per ritardare l'evaporazione⁽²⁾. L'asta dell'albero motore è posi-

zionata in modo tale che il suo asse non devii, in nessun punto, più di 2 mm dall'asse verticale del recipiente e la sua rotazione sia uniforme e senza oscillazioni significative suscettibili di influenzare i risultati. L'apparecchio è dotato di un dispositivo che permette di regolare la velocità di rotazione dell'asta e di mantenerla ad un valore specificato con una variazione del 4 per cento.



1) Setaccio a saldatura continua: diametro dei fili 0,25-0,31 mm; apertura delle maglie 0,36-0,44 mm. La realizzazione della saldatura può dar luogo ad una lieve modificazione del setaccio.

2) Lo scarto massimo ammissibile in "A" è di 1,0 mm quando l'elemento è in rotazione attorno all'asse centrale con il cestello montato.

Figura 2.9.3.-1. *Apparecchio 1 a cestello*
Dimensioni in millimetri

(1) Il materiale non deve assorbire, reagire o interferire con la preparazione che deve essere saggiata.

(2) Se si impiega un coperchio, esso deve essere dotato di aperture sufficienti per l'inserimento del termometro e per il prelievo dei campioni.

L'asta dell'albero motore ed il cestello, che costituiscono l'agitatore, sono costruiti in acciaio inossidabile, del tipo 316 o equivalente, e sono conformi alle specifiche riportate in Figura 2.9.3.-1.

Può essere utilizzato un cestello con un rivestimento in oro, dello spessore di circa $2,5\ \mu\text{m}$ (0,0001 pollici). All'inizio di ciascun saggio, la preparazione in esame viene posta in un cestello asciutto. Durante il saggio la distanza tra il fondo del recipiente ed il fondo del cestello viene mantenuta a $25 \pm 2\ \text{mm}$.

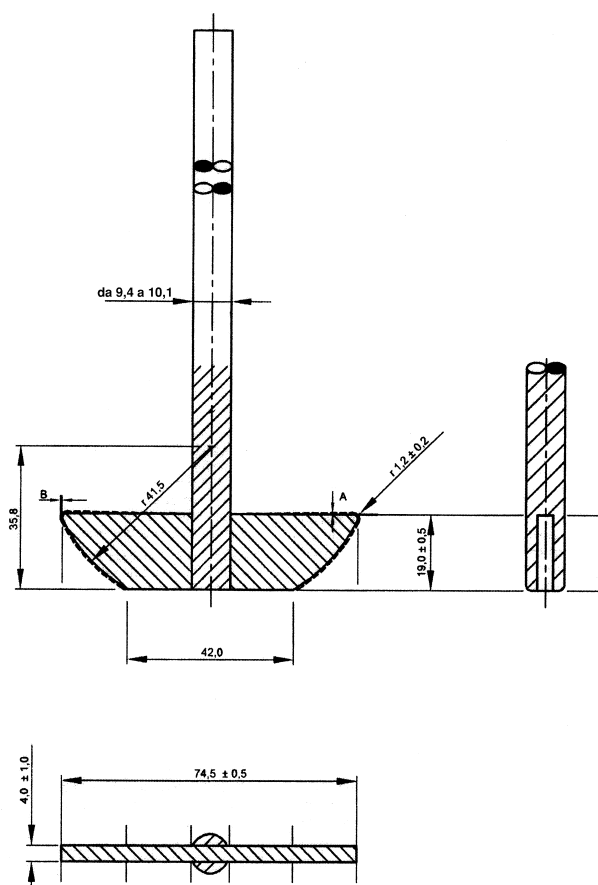
Apparecchio 2 (apparecchio a paletta). L'apparecchio presenta la stessa configurazione dell'apparecchio 1 ma, in questo caso, l'agitatore è costituito da una paletta e da un'asta. L'asta è posizionata in modo tale che il suo asse non devii, in nessun punto, più di 2 mm rispetto all'asse verticale del recipiente e la sua rotazione sia uniforme e senza oscillazioni suscettibili di influenzare i risultati. La paletta è inserita sull'asta in modo che i loro assi coincidano e che la superficie inferiore della paletta sia esattamente a filo con l'estremità dell'asta. L'agitatore a paletta è conforme alle specifiche riportate in Figura 2.9.3.-2. Durante il saggio la distanza tra il fondo del recipiente ed il bordo inferiore della paletta viene mantenuta a $25 \pm 2\ \text{mm}$. La paletta e l'asta sono di metallo e di altro materiale rigido ed inerte e formano un tutto unico. Tuttavia, può essere utilizzato un sistema costituito da due parti separabili, a condizione che le due parti restino solidamente unite durante il saggio. L'asta e la paletta possono essere rivestite da un adatto rivestimento che le renda inerti. Prima di mettere in rotazione l'agitatore a paletta si lascia cadere, sul fondo del recipiente, l'unità della preparazione in esame. Certe preparazioni, che presentano la tendenza a galleggiare, possono essere zavorrate con un materiale non reattivo, per esempio con qualche giro, ad elica, di filo metallico. Per ottenere l'immersione si può utilizzare anche il dispositivo in Figura 2.9.3.-3. Possono essere utilizzati anche altri dispositivi di zavorramento, purché siano convalidati.

Apparecchio 3 (apparecchio a pistone). L'apparecchio è composto dai seguenti elementi: una serie di recipienti cilindrici a fondo piatto, in vetro; una

serie di pistoni tubolari in vetro; dei raccordi in materiale inerte (in acciaio inossidabile tipo 316 o altro materiale idoneo); delle reti in materiale non reattivo e non assorbente che si adattino alle due estremità dei pistoni; un motore ed un meccanismo di trasmissione che possa, all'interno dei recipienti, imprimere ai pistoni un movimento verticale alternato, e, se necessario, permetta di trasferire i pistoni, orizzontalmente, ad una diversa fila di recipienti. I recipienti sono parzialmente immersi in un adatto bagno maria, termostato e di adatte dimensioni, che permette di mantenere, durante il saggio, una temperatura di $37 \pm 0,5\ ^\circ\text{C}$. Nessuna parte dell'apparecchio, incluso l'ambiente in cui è posto, genera movimento, agitazione o vibrazione significativa, eccetto quelle dovute al regolare movimento verticale del pistone. Un dispositivo di regolazione permette di selezionare la frequenza del movimento alternativo e di mantenerla al valore di specifica \pm il 5 per cento. È preferibile utilizzare un apparecchio che permetta di osservare l'unità sottoposta al saggio ed il pistone. I recipienti sono dotati di una copertura che regola l'evaporazione e che resta sul posto per la durata del saggio. Salvo indicazione contraria, i componenti dell'apparecchio sono conformi alle specifiche dimensionali riportate in Figura 2.9.3.-4.

Apparecchio 4 (cella a flusso continuo). L'apparecchio è composto dai seguenti elementi: un serbatoio; una pompa che assicura la circolazione del mezzo di dissoluzione; una cella a flusso continuo; un bagno maria che consente di mantenere il mezzo di dissoluzione a $37 \pm 0,5\ ^\circ\text{C}$. Impiegare una cella avente le dimensioni riportate in specifica.

La pompa spinge il mezzo di dissoluzione verso l'alto attraverso la cella a flusso continuo. Essa ha una portata di 240 – 960 ml/h, con velocità standard di 4 ml/min, 8 ml/min e 16 ml/min. Essa deve fornire una velocità costante (\pm 5 per cento della velocità nominale); il profilo del flusso è sinusoidale con una frequenza di 120 ± 10 pulsazioni al minuto. Può essere utilizzato anche un flusso non pulsante.



Le dimensioni A e B non variano più di 0,5 mm quando la paletta ruota sul suo asse centrale. Se non diversamente indicato, le tolleranze sono $\pm 1,0$ mm.

Figura 2.9.3.-2. *Apparecchio 2 a paletta*
Dimensioni in millimetri

La cella a flusso continuo (vedi Figure 2.9.3.-5 e 2-9.3.-6), di materiale trasparente ed inerte, è montata verticalmente e dotata, sulla parte alta, di un sistema filtrante che previene la fuoruscita di particelle indissolte; i diametri delle celle standard sono di 12 mm e 22,6 mm; la parte inferiore conica della cella è riempita, generalmente, con piccole sfere di vetro di circa 1 mm di diametro ed una sfera più grossa, di circa 5 mm di diametro, è posta sulla punta per proteggere il tubo di entrata del fluido; per forme farmaceutiche particolari si può utilizzare un supporto speciale (vedi Figure 2.9.3.-5 e 2.9.3.-6). La cella è immersa in un bagno maria che consente di mantenere la temperatura a $37 \pm 0,5$ °C.

Il montaggio della cella si effettua utilizzando un dispositivo di bloccaggio e due guarnizioni toroidali ("o ring"). La pompa è separata dall'unità di dissoluzione per proteggere quest'ultima dalle vibrazioni provenienti dalla pompa. La pompa non deve essere installata ad un livello superiore a quello del serbatoio del mezzo di dissoluzione. I tubi di collegamento sono il più corti possibile. È conveniente utilizzare tubi in

materiale inerte, come il politetrafluoroetilene, con un diametro interno di 1,6 mm e connessioni con raccordi a flangia chimicamente inerti.

Idoneità dell'apparecchio. La dimostrazione della idoneità dell'apparecchio ad eseguire il saggio di dissoluzione deve includere la conformità dell'apparecchio alle dimensioni ed alle tolleranze indicate precedentemente. Inoltre, i parametri critici che devono essere verificati, periodicamente, durante l'impiego, comprendono il volume e la temperatura del mezzo di dissoluzione, la velocità di rotazione (Apparecchi 1 e 2), la frequenza del movimento alternato (Apparecchio 3) e la velocità del mezzo di dissoluzione (Apparecchio 4).

Verificare periodicamente che la prestazione dell'apparecchio di dissoluzione sia accettabile.

METODO

APPARECCHI 1 E 2

Forme solide a rilascio convenzionale

Metodo. Nel recipiente dell'apparecchio riportato in specifica, introdurre il volume indicato (± 1 per cento) del mezzo di dissoluzione. Assemblare l'apparecchio, equilibrare il mezzo di dissoluzione a $37 \pm 0,5$ °C e rimuovere il termometro. Il saggio può essere condotto con il termometro inserito a condizione di dimostrare che i risultati ottenuti sono equivalenti a quelli ottenuti senza il termometro.

Porre una unità della preparazione da esaminare nell'apparecchio avendo cura di evitare la formazione di bolle d'aria sulla superficie del campione. Mettere in funzione l'apparecchio alla velocità di specifica. Nell'intervallo di tempo specificato, o a ciascuno dei tempi indicati, prelevare un campione del mezzo di dissoluzione da una zona intermedia tra la superficie del mezzo di dissoluzione e la parte superiore del cestello o della paletta, in rotazione, a non meno di 1 cm dalla parete del recipiente. Compensare i volumi prelevati con dei volumi uguali del mezzo di dissoluzione a 37 °C o, se è possibile dimostrare che non è necessaria la compensazione del mezzo di dissoluzione, tenere conto, nei calcoli, della variazione di volume. Mantenere il recipiente coperto per tutta la durata del saggio e verificare, ad appropriati intervalli di tempo, la temperatura del mezzo di dissoluzione. Procedere all'analisi del campione con un metodo di analisi appropriato⁽³⁾. Ripetere il saggio su altre unità della preparazione.

(3) I campioni vengono filtrati immediatamente dopo il campionamento, a meno che non si sia dimostrato che la filtrazione non è necessaria. Utilizzare un filtro inerte che non provochi adsorbimento della sostanza attiva o contenga sostanze estraibili che potrebbero interferire con l'analisi.

Se si utilizza un sistema di campionamento automatico o l'apparecchio è, in altro modo, modificato, è necessario verificare che l'apparecchio modificato fornisca risultati equivalenti a quelli ottenuti con l'apparecchio descritto in questo capitolo.

Mezzo di dissoluzione. Si utilizza un adatto mezzo di dissoluzione. Il volume prescritto è riferito ad una misura effettuata tra 20 e 25 °C. Se il mezzo di dissoluzione è costituito da una soluzione tampone, aggiustare il pH della soluzione entro $\pm 0,05$ unità dal valore prescritto. La presenza di gas disciolti può causare la formazione di bolle che possono falsare il risultato del saggio. In questo caso i gas disciolti vanno allontanati prima dell'analisi⁽⁴⁾.

Tempi. Quando è indicato un solo tempo, il saggio può essere concluso in un periodo più breve se si raggiunge il tasso minimo di dissoluzione richiesto. I campioni devono essere prelevati solamente ai tempi indicati, con una tolleranza del ± 2 per cento.

Forme solide a rilascio prolungato.

Metodo. Operare come descritto per le forme a rilascio convenzionale.

Mezzo di dissoluzione. Operare come descritto per le forme a rilascio convenzionale.

Tempi. I tempi ai quali si effettuano i prelievi (generalmente tre) sono espressi in ore.

Forme solide a rilascio ritardato.

Metodo. Utilizzare il Procedimento A o il Procedimento B.

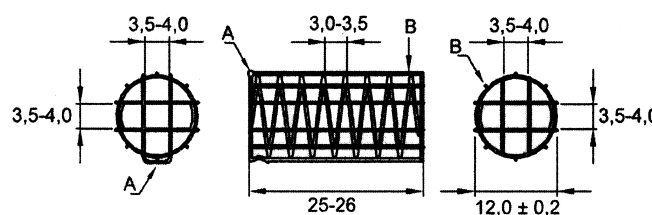
PROCEDIMENTO A

- **Ciclo acido.** Porre nel recipiente 750 ml di *acido cloridrico 0,1 M* ed assemblare l'apparecchio. Lasciare equilibrare a $37 \pm 0,5$ °C il mezzo di dissoluzione. Introdurre nell'apparecchio una unità della preparazione in esame, coprire il recipiente e mettere in funzione l'apparecchio alla velocità prescritta. Dopo due ore di agitazione nell'*acido cloridrico 0,1 M*, prelevare un campione del mezzo di dissoluzione e proseguire immediatamente come indicato nel Ciclo tampone. Eseguire l'analisi del campione prelevato con un adatto metodo di dosaggio.

(4) Un metodo di deaerazione può essere il seguente: riscaldare il mezzo di dissoluzione a circa 41 °C in blanda agitazione, filtrare immediatamente, sotto vuoto e sotto energica agitazione, impiegando un filtro con una porosità di 0,45 μm o inferiore e continuare l'agitazione, sotto vuoto, per cinque minuti. Per allontanare i gas disciolti si possono utilizzare anche altre, convalidate, tecniche di deaerazione.

- **Ciclo tampone.** Le operazioni di aggiunta del tampone e di aggiustamento del pH devono essere eseguite entro cinque minuti. Con l'apparecchio in funzione alla velocità prescritta aggiungere, al mezzo di dissoluzione presente nel recipiente, 250 ml di una soluzione 0,20 M di *sodio fosfato tribasico dodecaidrato R* precedentemente equilibrato a $37 \pm 0,5$ °C. Aggiustare il pH, se necessario, a $6,8 \pm 0,05$ con *acido cloridrico 2 M* o *sodio idrossido 2 M*.

Continuare l'agitazione per 45 minuti, o per il tempo indicato, quindi prelevare un campione del mezzo di dissoluzione ed eseguire l'analisi impiegando un adatto metodo di dosaggio.



A: Fermaglio resistente all'acido
B: Supporto resistente all'acido

Figura 2.9.3.-3. Dispositivo di mantenimento in immersione
Dimensioni in millimetri

PROCEDIMENTO B

- **Ciclo acido.** Porre nel recipiente 1000 ml di *acido cloridrico 0,1 M* ed assemblare l'apparecchio. Lasciare equilibrare il mezzo di dissoluzione a $37 \pm 0,5$ °C. Introdurre nell'apparecchio una unità della preparazione in esame, coprire il recipiente e mettere in funzione l'apparecchio alla velocità prescritta. Dopo due ore di agitazione nell'*acido cloridrico 0,1 M* prelevare un campione del mezzo di dissoluzione e proseguire immediatamente come indicato nel Ciclo tampone. Eseguire l'analisi del campione prelevato con un adatto metodo di dosaggio.
- **Ciclo tampone.** Per questo ciclo del procedimento utilizzare un tampone precedentemente equilibrato a $37 \pm 0,5$ °C. Eliminare l'acido cloridrico contenuto nel recipiente ed introdurre 1000 ml di una soluzione tampone a pH 6,8 preparata come segue: mescolare tre volumi di *acido cloridrico 0,1 M* ed un volume di una soluzione 0,20 M di *sodio fosfato tribasico dodecaidrato R*, se necessario, aggiustare il pH a $6,8 \pm 0,05$ con *acido cloridrico 2 M* o *sodio idrossido 2 M*. Si può anche procedere togliendo dall'apparecchio il recipiente contenente l'acido cloridrico sostituendolo con un altro contenente il

tampone e poi trasferire in quest'ultimo la preparazione in esame. Proseguire l'agitazione per 45 minuti, o per il tempo indicato, quindi prelevare un campione del mezzo di dissoluzione ed eseguire l'analisi impiegando un adatto metodo di dosaggio.

Tempi. Salvo indicazione contraria, tutti i tempi di prelevamento indicati devono essere strettamente osservati con una tolleranza del ± 2 per cento.

APPARECCHIO 3

Forme solide a rilascio convenzionale

Metodo. Porre in ciascuno dei recipienti il volume indicato (± 1 per cento) del mezzo di dissoluzione, assemblare l'apparecchio, equilibrare il mezzo di dissoluzione a $37 \pm 0,5$ °C e togliere il termometro. Introdurre, in ciascuno dei pistoni, una unità della preparazione in esame avendo cura di evitare la formazione di bolle d'aria sulla superficie del campione e mettere immediatamente in funzione l'apparecchio come specificato. Durante ciascun ciclo di salita-discesa, il pistone percorre una distanza totale di $9,9 \pm 10,1$ cm. All'intervallo di tempo specificato, o a ciascuno dei tempi indicati, alzare il pistone e prelevare un campione del mezzo di dissoluzione in una zona intermedia tra la superficie del mezzo di dissoluzione ed il fondo di ciascun recipiente. Procedere all'analisi come indicato. Se necessario, ripetere il saggio su altre unità della preparazione. Compensare l'aliquota del mezzo di dissoluzione prelevata con un uguale volume del mezzo di dissoluzione a 37 °C o, se si può dimostrare che la compensazione del mezzo di dissoluzione non è necessario, tenere conto, nei calcoli, della variazione di volume. Mantenere i recipienti coperti durante tutta la durata del saggio e verificare, ad intervalli appropriati, la temperatura del mezzo di dissoluzione.

Mezzo di dissoluzione. Procedere come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio convenzionale.

Tempi. Procedere come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio convenzionale.

Forme a rilascio prolungato.

Metodo. Procedere come descritto all'Apparecchio 3 per le forme a rilascio convenzionale.

Mezzo di dissoluzione. Procedere come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio prolungato.

Tempi. Procedere come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio prolungato.

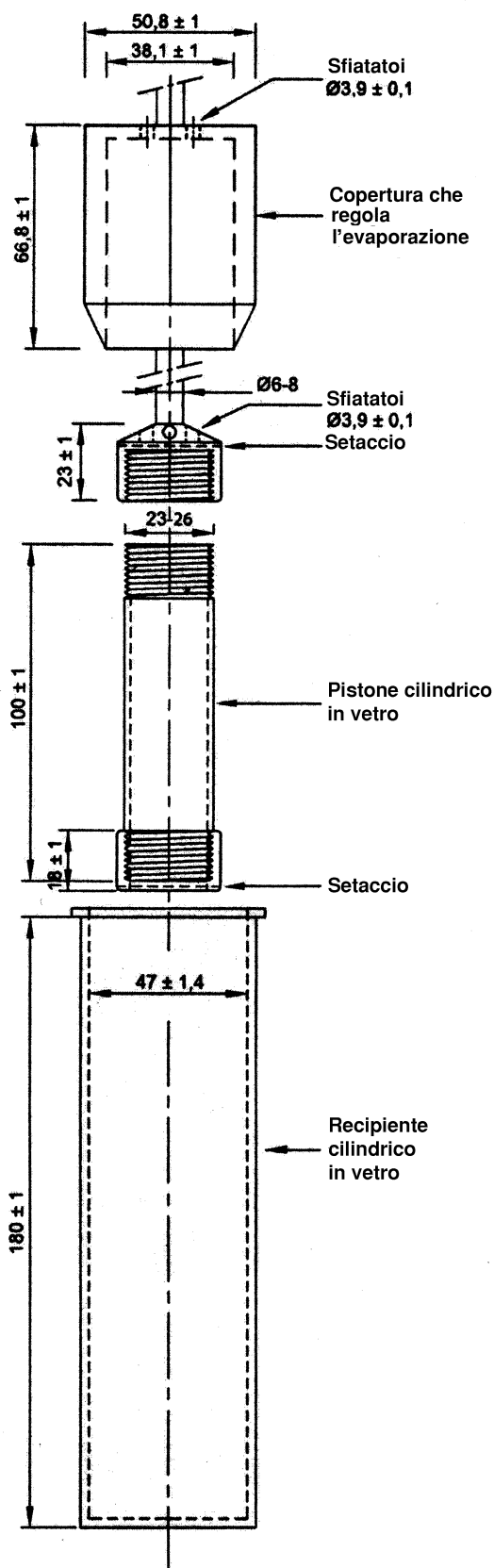


Figura 2.9.3.-4. Apparecchio 3 a pistone
Dimensioni in millimetri salvo indicazioni contrarie

Forme a rilascio ritardato.

Metodo. Procedere come descritto, agli Apparecchi 1 e 2, per le forme a rilascio ritardato, Metodo B utilizzando una serie di recipienti per il ciclo acido ed una altra serie per il ciclo tampone, impiegando il volume prescritto (generalmente 300 ml) del mezzo di dissoluzione.

Tempi. Procedere come indicato agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio ritardato

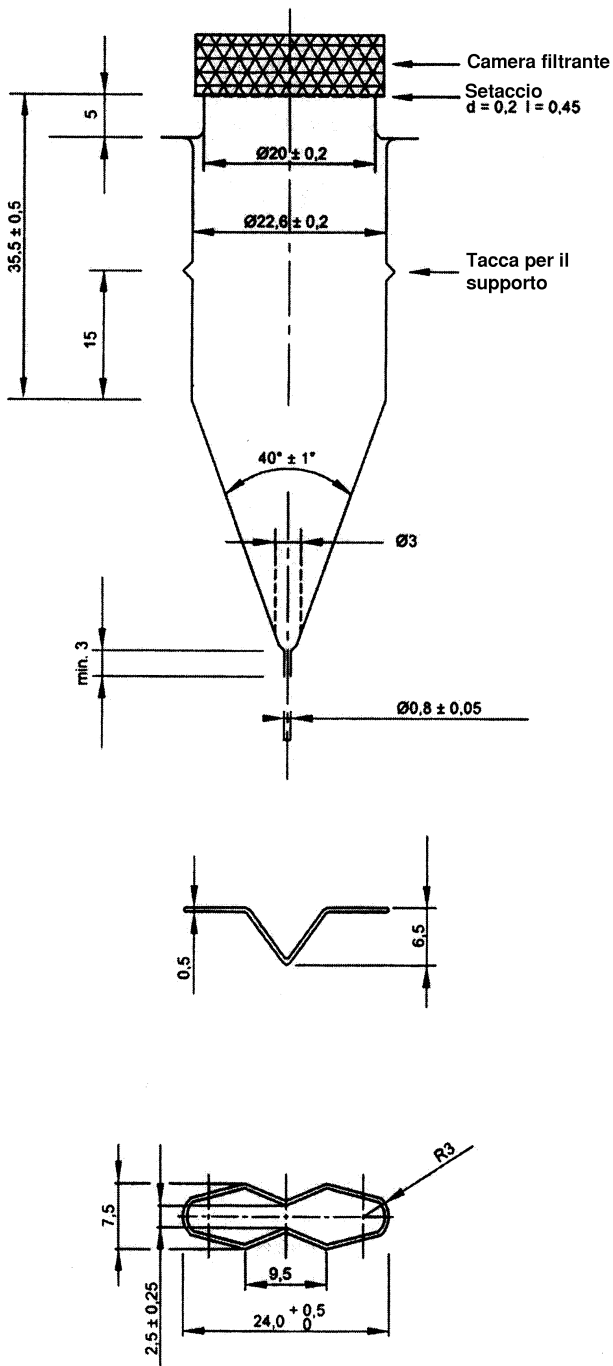


Figura 2.9.3.-5. Apparecchio 4, cella grande per compresse e capsule (in alto) e relativo supporto speciale corrispondente (in basso) Dimensioni in millimetri salvo indicazioni contrarie

APPARECCHIO 4

Forme a rilascio convenzionale.

Metodo. Porre le sfere di vetro nella cella prescritta. Introdurre una unità della preparazione da esaminare sopra le sfere o, se indicato, sopra un supporto speciale. Montare la testa filtrante e fissare tra loro le diverse parti dell'apparecchio per mezzo del dispositivo di bloccaggio. Con l'aiuto della pompa introdurre, dal fondo della cella, il mezzo di dissoluzione, riscaldato a $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, in modo da ottenere la velocità prescritta misurata con una accuratezza del 5 per cento. Ai tempi previsti, raccogliere l'eluato in frazioni. Procedere all'analisi come indicato. Ripetere il saggio su altre unità della preparazione.

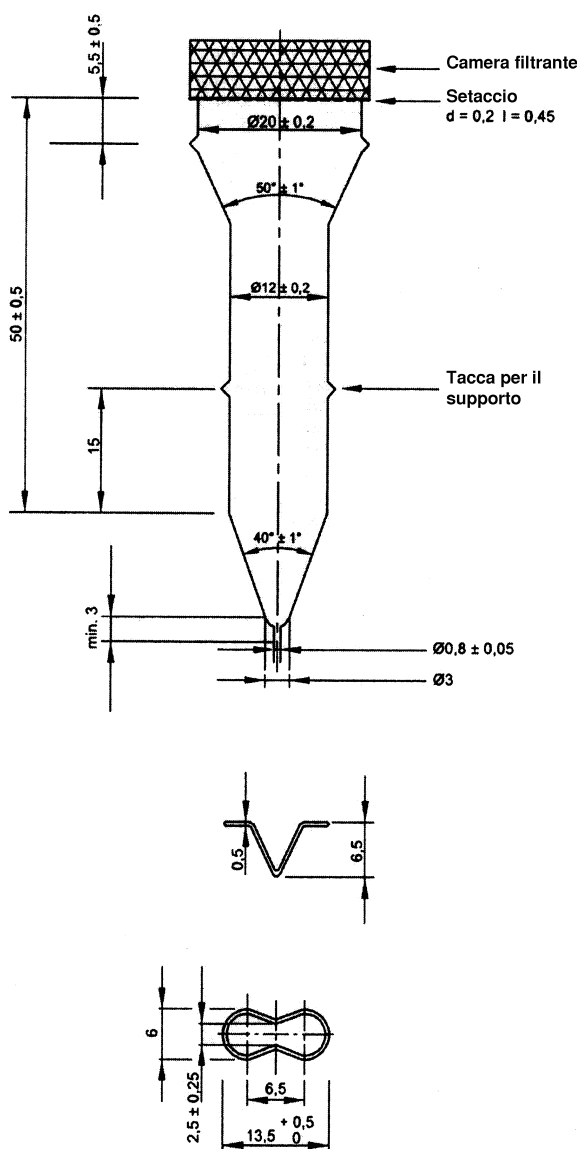


Figura 2.9.3.-6. Apparecchio 4, cella di piccole dimensioni per compresse e capsule (in alto) e relativo supporto speciale corrispondente (in basso) Dimensioni in millimetri salvo indicazioni contrarie

Mezzo di dissoluzione. Operare come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio convenzionale.
Tempi. Operare come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio convenzionale.

Forme a rilascio prolungato.

Metodo. Procedere come descritto all'Apparecchio 4 per le forme a rilascio convenzionale.

Mezzo di dissoluzione. Procedere come descritto all'Apparecchio 4 per le forme a rilascio convenzionale.

Tempi. Procedere come descritto all'Apparecchio 4 per le forme a rilascio convenzionale.

Forme a rilascio ritardato.

Metodo. Procedere come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio ritardato, utilizzando i mezzi di dissoluzione prescritti.

Tempi. Procedere come descritto agli Apparecchi 1 e 2 per le forme a rilascio ritardato.

INTERPRETAZIONE

Forme a rilascio convenzionale.

Se non diversamente indicato, i requisiti del saggio sono soddisfatti se le quantità di sostanza attiva passata in soluzione sono conformi ai criteri di accettazione riportati nella Tabella 2.9.3.-1. Proseguire il saggio fino al terzo livello, a meno che si ottengano risultati conformi ai livelli S_1 o S_2 . La grandezza Q è la quantità specificata di sostanza attiva disciolta, espressa come percentuale del contenuto indicato in etichetta; le percentuali (5 per cento, 15 per cento, 25 per cento) riportate in tabella sono, ugualmente, percentuali riferite al contenuto indicato in etichetta, cosicché questi valori sono espressi negli stessi termini di Q .

Tabella 2.9.3.-1

Livello	Numero di unità esaminate	Criteri di accettazione
S_1	6	Nessuna unità è inferiore a $Q+5$ per cento
S_2	6	Il valore medio delle 12 unità (S_1+S_2) è uguale o superiore Q e nessuna unità è inferiore a $Q-15$ per cento
S_3	12	Il valore delle 24 unità ($S_1+S_2+S_3$) è uguale o superiore a Q , al massimo 2 unità possono essere inferiori a $Q-15$ per cento e nessuna unità è inferiore a $Q-25$ per cento.

Forme a rilascio prolungato

Se non diversamente indicato, i requisiti del saggio sono soddisfatti se le quantità di sostanza attiva passate in soluzione sono conformi ai criteri di accettazione della Tabella 2.3.9.-2.

Tabella 2.9.3.-2

Livello	Numero di unità esaminate	Criteri di accettazione
L_1	6	Nessun valore individuale giace all'esterno dei differenti limiti in specifica e non è inferiore alla quantità specificata al tempo finale del saggio.
L_2	6	Il valore medio delle 12 unità ($L_1 + L_2$) è compreso entro ciascuno dei limiti stabiliti e non è inferiore alla quantità indicata specificata al tempo finale del saggio; nessun valore presenta, rispetto a ciascuno dei limiti in specifica, uno scarto superiore al 10 per cento del contenuto indicato in etichetta; nessuno risulta inferiore, di più del 10 per cento del contenuto indicato in etichetta, alla quantità specificata al tempo finale del saggio.
L_3	12	Il valore medio delle 24 unità ($L_1 + L_2 + L_3$) è compreso entro ciascuno dei limiti in specifica e non è inferiore alla quantità specificata al tempo finale del saggio; non più di 2 dei 24 valori possono presentare, rispetto a ciascuno dei limiti in specifica, uno scarto superiore al 10 per cento del contenuto indicato in etichetta ; al massimo 2 dei 24 valori possono essere inferiori, di più del dieci per cento del contenuto indicato in etichetta, alla quantità specificata al tempo finale del saggio; nessun valore presenta, rispetto ai diversi limiti in specifica, uno scarto superiore al 20 per cento del contenuto indicato in etichetta né inferiore di più del 20 per cento del contenuto indicato in etichetta, alla quantità specificata al tempo finale del saggio.

Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide

Proseguire il saggio fino al terzo livello a meno che si siano ottenuti risultati conformi ai livelli L_1 o L_2 . I limiti relativi ai quantitativi di sostanza attiva passata in soluzione sono espressi come percentuale del contenuto indicato in etichetta. Essi delimitano un intervallo che comprende ogni valore Q_i , cioè la quantità di sostanza attiva passata in soluzione a ciascuno dei tempi di analisi prescritti. Quando è indicato più di un intervallo, i criteri di accettazione si applicano, individualmente, a ciascuno di essi.

Forme solide a rilascio ritardato

Ciclo acido. Se non diversamente indicato, i requisiti di questo ciclo sono soddisfatti se le quantità di sostanza attiva passata in soluzione, espresse come percentuali della quantità indicata in etichetta, corrispondono ai criteri di accettazione della Tabella 2.9.3.-3.

Tabella 2.9.3.-3

Livello	Numero di unità esaminate	Criteri di accettazione
A_1	6	Nessun valore individuale presenta un tasso di dissoluzione superiore al 10 per cento.
A_2	6	Il valore medio delle 12 unità ($A_1 + A_2$) non presenta un tasso di dissoluzione superiore al 10 per cento e nessun valore individuale presenta un tasso di dissoluzione superiore al 25 per cento.
A_3	12	Il valore medio delle 24 unità ($A_1 + A_2 + A_3$) non presenta un tasso di dissoluzione superiore al 10 per cento e nessun valore individuale presenta un tasso di dissoluzione superiore al 25 per cento.

Proseguire il saggio fino al terzo livello a meno che non si siano ottenuti risultati conformi, sia per la fase acida che per la fase tampone, ad un livello inferiore.

Ciclo tampone. Se non diversamente indicato, i requisiti sono soddisfatti se la quantità di sostanza attiva passata in soluzione sono conformi ai criteri di accettazione in Tabella 2.9.3.-4. Proseguire il saggio fino al

terzo livello a meno che non si siano ottenuti risultati conformi, per entrambi i cicli, ad un livello inferiore. Il valore Q nella tabella 2.9.3.-4 è pari al 75 per cento di dissoluzione, salvo indicazione contraria. La grandezza Q è la quantità totale indicata in specifica di sostanza attiva passata in soluzione nel corso dei due cicli, acido e tampone, espressa come percentuale del contenuto indicato in etichetta; le percentuali (5 per cento, 15 per cento e 25 per cento) che compaiono nella tabella sono percentuali del contenuto indicato in etichetta, cosicché questi valori e Q sono espressi negli stessi termini.

Tabella 2.9.3.-4

Livello	Numero di unità esaminate	Criteri di accettazione
B_1	6	Nessuna unità è inferiore a $Q + 5$ per cento
B_2	6	Il valore medio delle 12 unità ($B_1 + B_2$) è uguale o superiore a Q e nessuna unità è inferiore a $Q - 15$ per cento.
B_3	12	Il valore medio delle 24 unità ($B_1 + B_2 + B_3$) è uguale o superiore a Q , non più di 2 unità possono essere inferiori a $Q - 15$ per cento e nessuna unità è inferiore a $Q - 25$ per cento.

La sezione seguente è pubblicata a titolo informativo

Raccomandazioni relative al saggio di dissoluzione

Nella determinazione della velocità di dissoluzione della/e sostanza/e attiva/e di una formula farmaceutica solida, devono essere indicati i seguenti aspetti:

- l'apparecchio da utilizzare e, nel caso in cui è stata indicata una cella a flusso continuo, il tipo di cella da impiegare;
- la composizione, il volume e la temperatura del mezzo di dissoluzione;
- la velocità di rotazione o la velocità di flusso del mezzo di dissoluzione;

- il modo di prelevamento del campione del mezzo di dissoluzione (tempi, metodo e volumi) o le condizioni per il monitoraggio in continuo;
- il metodo di analisi;
- i criteri di accettazione.

La scelta dell'apparecchio da utilizzare dipende dalle caratteristiche fisico-chimiche della forma farmaceutica. Quando, per realizzare le condizioni di immersione adeguate, è necessario un volume elevato del liquido di dissoluzione, o quando è necessario un cambiamento di pH, è preferibile impiegare l'apparecchio a flusso continuo.

CONDIZIONI SPERIMENTALI

Il funzionamento dell'apparecchio a paletta, a cestello o a movimento alternativo è basato, generalmente, sul principio di applicare le condizioni di immersione adeguate, cioè in condizioni tali che il prodotto già passato in soluzione non determina modificazioni significative della velocità di dissoluzione del prodotto rimanente. Queste condizioni si realizzano, normalmente, quando il volume del mezzo di dissoluzione costituisce da tre a dieci volte, almeno, il volume di saturazione.

In generale, si utilizza un mezzo acquoso. La composizione del mezzo di dissoluzione è scelta sulla base delle caratteristiche fisico-chimiche della/e sostanza/e attiva/e e del o degli eccipienti, entro i limiti delle condizioni alle quali la forma farmaceutica è probabilmente esposta dopo somministrazione. Ciò si applica soprattutto al pH ed alla forza ionica del mezzo di dissoluzione.

Il pH del mezzo di dissoluzione è generalmente compreso tra pH 1 ed 8. In casi giustificati, può essere necessario un pH più elevato. Per valori di pH più bassi si impiega, normalmente, dell'*acido cloridrico 0,1 M*. I mezzi di dissoluzione raccomandati sono descritti più avanti.

L'impiego dell'acqua come mezzo di dissoluzione è raccomandato solo quando è provato che le variazioni di pH non influiscono sulle caratteristiche della dissoluzione.

In casi specifici, i mezzi di dissoluzione possono contenere enzimi, tensioattivi o altre sostanze inorganiche od organiche. Per saggiare preparazioni contenenti sostanze attive scarsamente solubili in acqua, può rendersi necessario modificare il mezzo di dissoluzione. In questo caso si raccomanda di impiegare una bassa concentrazione di un tensioattivo e di evitare l'uso di solventi organici.

La presenza di gas disciolti nel mezzo di dissoluzione può influenzare i risultati del saggio di dissoluzione. Ciò è vero, in particolare, per l'apparecchio a flusso con-

tinuo, per cui è necessario deareare il mezzo di dissoluzione per evitare la formazione di bolle di gas nella cella. Un adatto metodo di deareazione è il seguente: sotto debole agitazione riscaldare il mezzo di dissoluzione a circa 41 °C, sotto vigorosa agitazione filtrarlo rapidamente sotto vuoto utilizzando un filtro con una porosità di 45 µm o inferiore e continuare l'agitazione, sotto vuoto, per circa 5 minuti. Per eliminare i gas disciolti si possono impiegare anche altre tecniche di deareazione.

Impiegando l'apparecchio a paletta o quello a cestello il volume del mezzo di dissoluzione è, normalmente, 500 - 1000 ml e la velocità di rotazione viene normalmente scelta tra 50 r/min e 100 r/min e non deve superare i 150 r/min.

Per l'apparecchio a flusso continuo, la velocità è normalmente regolata tra 4 ml/min e 50 ml/min.

MEZZI DI DISSOLUZIONE CONSIGLIATI

Si possono impiegare i seguenti mezzi di dissoluzione

Tabella 2.9.3.-5. - *Esempi di mezzi di dissoluzione*

pH	Mezzo di dissoluzione
pH 1,0	HCl
pH 1,2	NaCl, HCl
pH 1,5	NaCl, HCl
pH 4,5	Tampone fosfato o acetato
ph 5,5 e pH 5,8	Tampone fosfato o acetato
pH 6,8	Tampone fosfato
pH 7,2 e 7,5	Tampone fosfato

La composizione ed il modo di preparazione di questi mezzi di dissoluzione sono riportati qui sotto.

Soluzioni con acido cloridrico

- *Acido cloridrico 0,2 M.*
- *Sodio cloruro 0,2 M.* Sciogliere 11,69 g di *sodio cloruro R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Per preparare i mezzi di dissoluzione riportati in Tabella 2.9.3.-6, porre 250 ml di *sodio cloruro 2 M* in un matraccio tarato da 1000 ml, aggiungere il quantitativo indicato di *acido cloridrico 0,2 M* e portare a volume con *acqua R*.

I mezzi di dissoluzione con acido cloridrico possono anche essere preparati sostituendo il sodio cloruro con il potassio cloruro.

Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide

Tabella 2.9.3.-6. - Mezzi di dissoluzione con acido cloridrico

pH	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0	2,1	2,2
HCl (ml)	425,0	336,0	266,0	207,0	162,0	130,0	102,0	81,0	65,0	51,0	39,0

Soluzioni con tampone acetato

- *Acido acetico 2M*. Diluire 120,0 g di *acido acetico glaciale R* a 1000,0 ml con *acqua R*.
- *Tampone acetato soluzione a pH 4,5*. Sciogliere 2,99 g di *sodio acetato R* in *acqua R*. Aggiungere 14,0 ml di *acido acetico 2 M* e diluire a 1000,0 con *acqua R*.
- *Tampone acetato soluzione a pH 5,5*. Sciogliere 5,98 g di *sodio acetato R* in *acqua R*. Aggiungere 3,0 di *acido acetico glaciale 2 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

- *Tampone acetato soluzione a pH 5,8*. Sciogliere 6,23 g di *sodio acetato R* in *acqua R*. Aggiungere 2,1 ml di *acido acetico glaciale 2 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Soluzioni con tampone fosfato

Per preparare le soluzioni tampone aventi i pH indicati in Tabella 2.9.3.-7, porre, in un matraccio tarato da 1000 ml, 250,0 ml di *potassio fosfato monobasico R*, aggiungere il volume indicato di *sodio idrossido 0,2 M* quindi portare a volume con *acqua R*.

Tabella 2.9.3.-7 - Tamponi fosfato, soluzioni

pH	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0
NaOH (ml)	18,0	28,0	40,5	58,0	82,0	112,0	145,5	173,5	195,5	212,0	222,5	230,5

Soluzioni con altri tamponi fosfato

- *Tampone fosfato soluzione a pH 4,5*. sciogliere 13,61 g di *potassio fosfato monobasico R* in 750 ml di *acqua R*. Se necessario, correggere il pH (2.2.3) con *sodio idrossido 0,1 M* o con *acido cloridrico 0,1 M*. portare a volume con *acqua R*.
- *Tampone fosfato soluzione a pH 5,5 R*.
- *Tampone fosfato soluzione a pH 6,8 R1*.
- *Tampone soluzione a pH 7,2 R*.
- *Tampone fosfato a pH 7,5 (0,33M) R*.

idrossido 0,2 M e 500 ml di *acqua R*. Aggiungere 10,0 g di *pancreas polvere R*, mescolare e, se necessario, correggere il pH (2.2.3). Portare a 1000,0 ml con *acqua R*

Soluzioni con succo gastrico artificiale

Sciogliere 2,0 g di *sodio cloruro R* e 3,2 g di *pepsina polvere R* in *acqua R*. Aggiungere 80 ml di *acido cloridrico 1 M* e portare 1000,0 ml con *acqua R*. Se necessario, la pepsina polvere può essere omessa.

Soluzioni con fluido intestinale artificiale a pH 6,8

Mescolare 250,0 ml di una soluzione contenente 6,8 g di *potassio fosfato monobasico R*, 77,0 ml di *sodio*

Incremento del pH

Nel caso in cui il saggio venga effettuato a pH crescenti, si può utilizzare una delle seguenti sequele:

Tempo (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				

Per ottenere queste variazioni di pH, è anche possibile:

- sostituire una soluzione tampone con un'altra (sostituzione completa);
- prelevare ogni volta solo metà del mezzo di dissoluzione (sostituzione di metà) e compensare con una soluzione tampone a pH più elevato: il pH iniziale è 1,2 e la seconda soluzione impiegata è il tampone fosfato a pH 7,5;
- aggiungere, come è descritto più sotto, ad una soluzione iniziale a pH 1,5 una dose di una miscela di polveri contenente *tris(idrossimetil)amminometano R* e *sodio acetato anidro R*, così da ottenere un pH 4,5 ed una seconda dose per ottenere pH 7,5;
- *acido cloridrico pH 1,5*. Sciogliere 2 g di *sodio cloruro R* in *acqua R*, aggiungere 31,6 ml di *acido cloridrico R* e portare a 1000,0 ml con *acqua R*;
- *tampone soluzione a pH 4,5*. Mescolare 2,28 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* con 1,77 g di *sodio acetato anidro R*. Sciogliere questa miscela nella soluzione di acido cloridrico pH 1,5 descritta sopra;
- *tampone soluzione a pH 7,2*. Mescolare 2,28 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* con 1,77 g di *sodio acetato anidro R*. Sciogliere questa miscela nel tampone soluzione a pH 4,5 descritto sopra.

Per operare con un gradiente continuo di pH si può impiegare la cella a flusso continuo.

QUALIFICAZIONE E CONVALIDA

Per la natura del metodo di saggio, la qualità della progettazione delle apparecchiature impiegate per il saggio di dissoluzione *in vitro* è un aspetto importante per la loro qualificazione. Devono essere evitate tutte le perturbazioni di origine meccanica, quali le vibrazioni o una agitazione indesiderata.

La qualificazione delle apparecchiature utilizzate per il saggio di dissoluzione, deve prendere in considerazione le dimensioni e le tolleranze dell'apparecchio. I parametri operativi critici, come la temperatura ed il volume del mezzo di dissoluzione, la velocità di rotazione e la velocità del liquido, i mezzi ed i metodi impiegati per il campionamento, devono essere monitorati periodicamente durante il periodo di utilizzo.

Le prestazioni dell'apparecchiatura utilizzata possono essere verificate conducendo il saggio con un prodotto di riferimento che sia sensibile alle condizioni idrodinamiche. Queste verifiche possono essere eseguite periodicamente o in continuo, per confronto con i risultati ottenuti da altri laboratori.

Durante il saggio, sono indispensabili un monitoraggio ed un controllo condotti in modo critico. Questo approccio è particolarmente importante per spiegare eventuali risultati aberranti.

La convalida di sistemi automatizzati, sia che riguardi il campionamento e l'analisi o che riguardi la preparazione del mezzo di dissoluzione o l'esecuzione del saggio, deve prendere in considerazione l'accuratezza, la precisione, l'eliminazione dei rischi di contaminazione nel corso delle operazioni di diluizione, di trasferimento, di prelievo e di preparazione dei campioni o dei solventi.

SPECIFICHE DI DISSOLUZIONE PER FORME SOLIDE ORALI

La specifica di dissoluzione è espressa dalla quantità Q di sostanza attiva, in percentuale del contenuto indicato in etichetta, che passa in soluzione in uno specifico intervallo di tempo.

Forme a rilascio convenzionale

Salvo indicazione contraria, il valore Q è del 75 per cento. Nella maggior parte dei casi, in condizioni operative ragionevoli e giustificate, almeno il 75 per cento della sostanza attiva è rilasciato entro 45 minuti. L'uso è quello di indicare un unico limite per garantire che la maggior parte della sostanza attiva sia passata in soluzione nell'intervallo di tempo definito.

Quando è giustificato un tempo di rilascio superiore a quello raccomandato più sopra, possono essere indicati limiti a due intervalli di tempo.

Forme a rilascio prolungato

Per forme a rilascio prolungato ci si aspetta, normalmente, che le specifiche di dissoluzione fissate dal produttore comportino tre o più punti. Il primo punto mira ad evitare un rilascio troppo rapido della sostanza attiva ("dose dumping"); il tempo prescelto corrisponde, come regola generale, ad un tasso di dissoluzione compreso tra il 20 ed il 30 per cento. Il secondo punto definisce il profilo di dissoluzione e corrisponde ad un tasso di rilascio attorno al 50 per cento. Con l'ultimo punto si intende verificare che il rilascio sia praticamente completo, che è, generalmente, considerato come un rilascio superiore allo 80 per cento.

Forme a rilascio ritardato

A seconda della loro formulazione, le forme a rilascio ritardato possono rilasciare la/e sostanza/e attiva/e in modo frazionato o completo, quando sono saggiate in mezzi di dissoluzione differenti (ad esempio in condizioni a pH crescente). Le specifiche di dissoluzione devono, quindi, essere stabilite caso per caso.

Saggio di dissoluzione per i cerotti transdermici

Le forme gastroresistenti richiedono delle specifiche con almeno due punti, nel caso di determinazioni sequenziali, e due differenti specifiche, nel caso di determinazioni in parallelo. In una determinazione sequenziale, il primo punto corrisponde ad una esposizione di una o due ore in mezzo acido ed il secondo ad un predefinito tempo di permanenza in un adatto tampone (di preferenza a pH 6,8). Se non diversamente indicato il valore Q è il 75 per cento.

2.9.4. SAGGIO DI DISSOLUZIONE PER I CEROTTI TRANSDERMICI

Questo saggio è utilizzato per determinare la velocità di dissoluzione dei principi attivi contenuti nei cerotti transdermici.

1. METODO DELL'APPARECCHIO A DISCO

Apparecchiatura Utilizzare la paletta e il recipiente dell'agitatore a paletta descritto nel saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3) con l'aggiunta di un disco di acciaio inossidabile a rete con maglie di apertura di $125\ \mu\text{m}$ (vedi Figura 2.9.4.-1). Il disco mantiene il cerotto transdermico sul fondo del recipiente ed è progettato in modo da rendere minimo lo spazio morto tra il disco e il fondo del recipiente; il disco mantiene inoltre il cerotto disteso, con la superficie di rilascio rivolta verso l'alto e parallela al margine inferiore della paletta. Durante il saggio, la distanza tra il margine inferiore della paletta e la superficie del disco è di $25 \pm 2\ \text{mm}$ (vedi Figura 2.9.4.-2). La temperatura è mantenuta a $32 \pm 0,5\ ^\circ\text{C}$. Il recipiente può essere coperto durante il saggio per ridurre al minimo l'evaporazione.

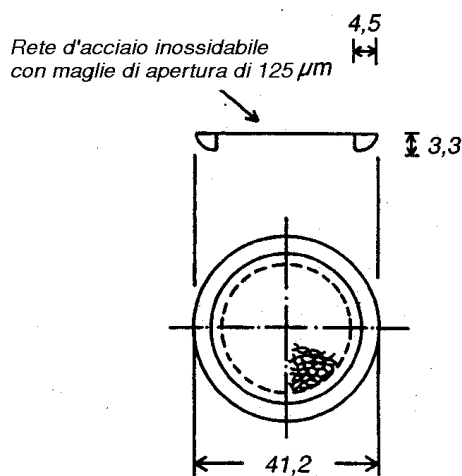


Figura 2.9.4.-1.- Disco
Dimensioni in millimetri

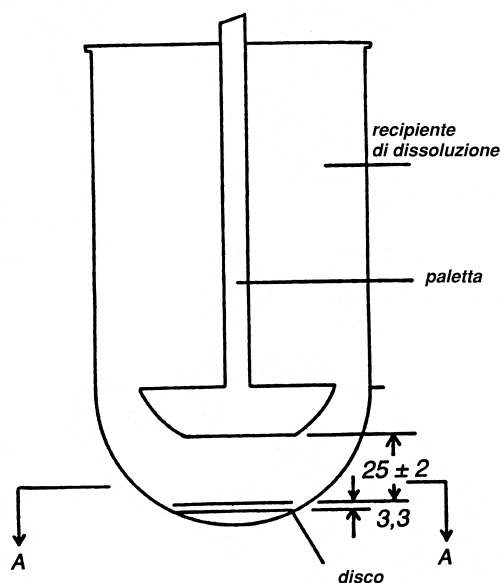


Figura 2.9.4.-2.- Paletta e disco
Dimensioni in millimetri

Procedimento

Introdurre nel recipiente il volume indicato del mezzo di dissoluzione e portarlo alla temperatura prescritta. Applicare il cerotto transdermico sul disco, avendo cura che la superficie di rilascio sia il più possibile piatta. Il cerotto può essere fissato sul disco con un adatto adesivo o con un nastro biadesivo. L'adesivo o il nastro vengono previamente controllati per l'assenza di interferenza con il saggio e per l'adsorbimento del o dei principi attivi. Applicare per pressione, sulla faccia del disco resa adesiva, il cerotto con la superficie di rilascio rivolta verso l'alto. Una volta applicato, il cerotto non deve superare i bordi del disco. A tale scopo, a condizione che la preparazione sia omogenea e uniformemente distribuita sul supporto, una porzione adatta ed esattamente misurata del cerotto può essere tagliata e utilizzata per determinare la velocità di dissoluzione. Questa procedura può anche essere necessaria per ottenere appropriate condizioni di stato stazionario, ma non può essere seguita per cerotti del tipo a serbatoio. Il campione montato sul disco viene posto sul fondo del recipiente con la superficie di rilascio rivolta verso l'alto. Azionare immediatamente la paletta, per esempio a 100 giri al minuto. A intervalli determinati, effettuare un prelievo nella zona intermedia tra

la superficie del mezzo di dissoluzione e il margine superiore della paletta, a non meno di 1 cm dalla parete del recipiente.

Effettuare la determinazione su ciascun campione correggendo, se necessario, qualsiasi perdita di volume. Ripetere il saggio con altri cerotti.

2. METODO DELLA CELLA

Apparecchiatura.

Utilizzare la paletta e il recipiente dell'apparecchio a paletta descritto al saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3) con l'aggiunta della cella di estrazione.

La *cella di estrazione* è ottenuta da materiali chimicamente inerti; si compone di un *supporto*, un *coperchio* e, se necessario, di una *membrana* posta sul cerotto per isolarlo dal liquido che può modificare o influenzare sfavorevolmente le sue proprietà fisico-chimiche (vedi Figura 2.9.4.-3).

Supporto. La parte centrale del supporto presenta una cavità destinata a contenere il cerotto. La cavità ha una profondità di 2,6 mm e un diametro adatto alle dimensioni del cerotto in esame. Possono essere utilizzati i seguenti diametri: 27 mm, 38 mm, 45 mm, 52 mm, corrispondenti rispettivamente ai volumi di 1,48 ml, 2,94 ml, 4,13 ml, 5,52 ml.

Coperchio. Il coperchio presenta un'apertura centrale di diametro scelto in funzione delle dimensioni del cerotto in esame. In questo modo il cerotto può essere esattamente centrato e la superficie di rilascio limitata. Possono essere utilizzati i seguenti diametri: 20 mm; 32 mm; 40 mm; 50 mm corrispondenti rispettivamente all'area di 3,14 cm², 8,03 cm², 12,56 cm², 19,63 cm². Il coperchio è mantenuto in sede da dadi avvitati su bulloni fissati al supporto. La tenuta è assicurata da un anello di gomma posto sul supporto.

La *cella di estrazione* mantiene il cerotto in esame piatto, con la superficie di rilascio rivolta verso l'alto e parallela al margine inferiore della paletta. La distanza tra il margine inferiore della paletta e la superficie del cerotto è mantenuta a 25 ± 2 mm (vedi Figura 2.9.4.-4). La temperatura è mantenuta a $32 \pm 0,5$ °C. Il recipiente può essere coperto durante il saggio per ridurre al minimo l'evaporazione.

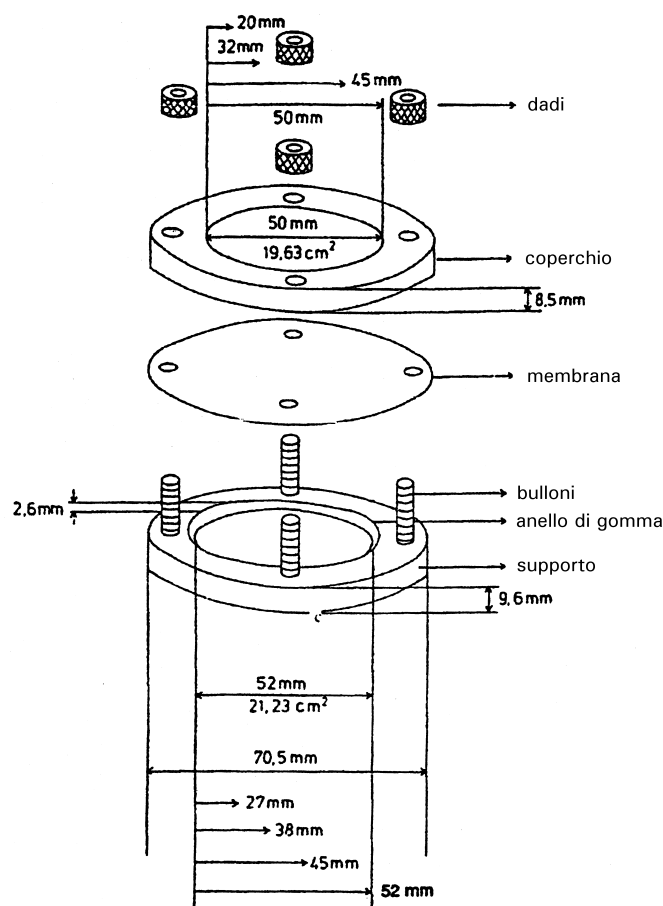


Figura 2.9.4.-3.- Cella di estrazione

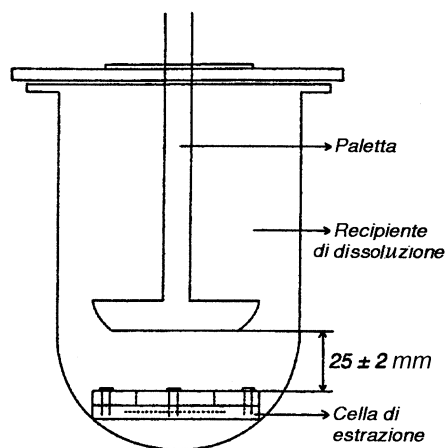


Figura 2.9.4.-4.- Paletta sopra la cella di estrazione

Procedimento

Introdurre nel recipiente il volume indicato del mezzo di dissoluzione e portarlo alla temperatura prescritta. Centrare esattamente il cerotto nella *cella* con la superficie di rilascio rivolta verso l'alto. Chiudere la *cella*, applicando, se necessario, sui bordi piatti una sostanza idrofoba (per esempio vaselina) per assicurare la tenuta e

garantire che il cerotto rimanga in sede. Introdurre la *cella* ponendola piatta sul fondo del recipiente, con il coperchio rivolto verso l'alto. Immediatamente mettere in moto la paletta, per esempio a 100 giri al minuto. A intervalli determinati, effettuare un prelievo del campione nella zona intermedia tra la superficie del mezzo di dissoluzione e il margine superiore della paletta, a non meno di 1 cm dalla parete del recipiente.

Effettuare la determinazione su ciascun campione correggendo, se necessario, per perdite di volume. Ripetere il saggio su altri cerotti.

3. METODO DEL CILINDRO ROTANTE

Apparecchiatura

Utilizzare l'apparecchio a paletta descritto al saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3). Sostituire la paletta e l'albero con un agitatore cilindrico d'acciaio inossidabile (*cilindro*) (vedi Figura 2.9.4.-5). Il cerotto viene posto sul *cilindro* all'inizio di ciascun saggio. La distanza tra il fondo interno del recipiente e il *cilindro* è mantenuta a 25 ± 2 mm durante la prova. La temperatura è mantenuta a $32 \pm 0,5$ °C. Il recipiente viene coperto, durante il saggio, per ridurre al minimo l'evaporazione.

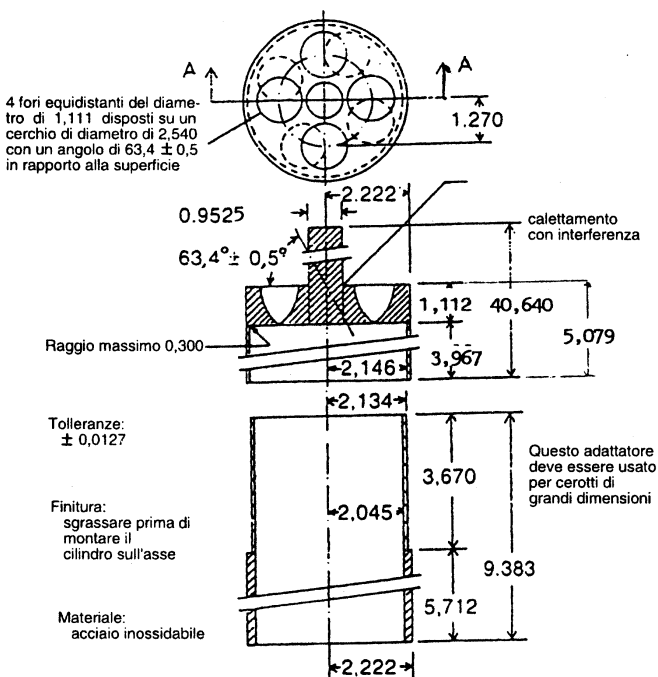


Figura 2.9.4.-5.- Elementi del cilindro rotante
 Dimensioni in centimetri

Procedimento

Introdurre nel recipiente il volume indicato del mezzo di dissoluzione e portare alla temperatura prescritta. Rimuovere il foglio protettivo dal cerotto e porre il lato adesivo su una membrana porosa inerte adatta, che sia almeno 1 cm per lato più larga del cerotto. Porre il cerotto su una superficie pulita in modo che la membrana sia a contatto con la superficie stessa.

Per l'adesione al cilindro, si possono impiegare due sistemi:

- applicare un adatto adesivo sui bordi scoperti della membrana e, se necessario, sul retro del cerotto,
- applicare un nastro biadesivo sulla parete esterna del *cilindro*.

Con attenzione applicare per leggera pressione il lato non adesivo del cerotto al cilindro in modo tale che la superficie di rilascio sia a contatto con il mezzo di dissoluzione e che l'asse longitudinale del cerotto si trovi intorno alla circonferenza del *cilindro*.

Il sistema di adesione utilizzato viene previamente controllato per verificare l'assenza di interferenza con il saggio e per l'adsorbimento del o dei principi attivi.

Porre il *cilindro* nell'apparecchio, e immediatamente mettere in moto il *cilindro*, per esempio a 100 giri al minuto. A intervalli determinati effettuare un prelievo da una zona intermedia tra la superficie del mezzo di dissoluzione e il margine superiore del *cilindro* rotante, a non meno di 1 cm dalla parete del recipiente.

Effettuare la determinazione su ciascun campione come indicato nella singola monografia, correggendo se necessario, per qualsiasi volume prelevato. Ripetere il saggio su altri cerotti.

Interpretazione

Il cerotto transdermico soddisfa al saggio se la quantità del o dei principi attivi rilasciata dal cerotto, espressa come quantità per area e per unità di tempo, è compresa entro i limiti prescritti ai tempi di prelevamento definiti.

2.9.5. UNIFORMITÀ DI MASSA DELLE FORME FARMACEUTICHE A DOSE UNICA

Pesare singolarmente venti unità prelevate a caso da uno stesso lotto o, per le preparazioni a dose unica allestite in confezione singola, i contenuti di venti unità e determinare la massa media. Non più di due di tali masse individuali possono presentare uno scarto, rispetto alla media, superiore alla percentuale riportata nella Tabella 2.9.5.-1 e nessuna unità può presentare uno scarto maggiore del doppio di tale percentuale.

Tabella 2.9.5.-1

Forma farmaceutica	Massa media	Deviazione percentuale
Compresse (non rivestite e rivestite con film)	80 mg o meno	10
	Più di 80 mg e meno di 250 mg	7,5
	250 mg o più	5
Capsule, granulati (non rivestiti, a dose unica) e polveri (a dose unica)	Meno di 300 mg	10
	300 mg o più	7,5
Polveri per preparazioni per uso parenterale (*) (a dose unica)	Più di 40 mg	10
Supposte ed ovuli	Qualsiasi massa	5
Polveri per colliri e polveri per bagni oculari (a dose unica)	Meno di 300 mg	10
	300 mg o più	7,5

(*) Quando la massa media è uguale o inferiore a 40 mg non si applica il saggio per l'uniformità di massa, ma il saggio per l'uniformità di contenuto delle forme farmaceutiche a dose unica (2.9.6).

Per capsule e polveri per uso parenterale, procedere come di seguito indicato.

CAPSULE

Pesare una capsula integra. Aprire la capsula senza perdere alcuna parte dell'involucro e prelevare il contenuto il più quantitativamente possibile. Per capsule molli, lavare l'involucro con un adatto solvente e lasciare a riposo finché l'odore del solvente non è più percettibile. Pesare l'involucro. La massa dei contenuti è data dalla differenza fra le pesate. Ripetere il procedimento con altre diciannove capsule.

POLVERI PER USO PARENTERALE

Togliere qualsiasi etichetta di carta da un contenitore e lavare ed asciugare la superficie esterna. Aprire il contenitore e velocemente pesarlo con il suo contenuto. Vuotare il contenitore il più quantitativamente possibile con leggeri colpetti, sciacquare, se necessario, con acqua R e poi con alcool R e seccare a 100-105 °C per 1 h oppure, se la natura del contenitore non consente di raggiungere questa temperatura, seccare a temperatura inferiore fino a massa costante. Lasciare raffreddare in un essiccatore e pesare. La massa dei contenuti è data dalla differenza fra le pesate. Ripetere il procedimento con altri diciannove contenitori.

2.9.6. UNIFORMITÀ DI CONTENUTO DELLE FORME FARMACEUTICHE A DOSE UNICA

Il saggio si basa sulla determinazione dei contenuti individuali di principio attivo in un numero di unità a dose unica, per verificare se sono compresi entro i limiti stabiliti in rapporto al contenuto medio del campione.

Il saggio non si applica ai preparati multivitaminici e alle preparazioni contenenti oligoelementi, e in altri casi giustificati e autorizzati.

Metodo. Prelevare a caso dieci unità di dosaggio e determinare, con un metodo analitico idoneo, i contenuti individuali in principio attivo in ciascuna di esse.

Applicare i criteri di valutazione dei saggi A, B o C come specificato nella monografia per la forma farmaceutica considerata.

SAGGIO A

Compresse, polveri per uso parenterale, inserti oftalmici e sospensioni per preparazioni iniettabili. La preparazione soddisfa al saggio se ciascun contenuto individuale è compreso tra l'85 per cento e il 115 per cento del contenuto medio. La preparazione non soddisfa al saggio se più di un contenuto individuale è fuori dei limiti suddetti, o se uno solo di essi è fuori dei limiti compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento del contenuto medio.

Se solo un contenuto individuale è fuori dei limiti compresi tra l'85 per cento e il 115 per cento, ma è compreso entro i limiti tra il 75 per cento e il 125 per cento, determinare i contenuti individuali di altre venti unità, prelevate a caso. La preparazione soddisfa al saggio se non più di uno dei contenuti individuali, delle trenta unità, è fuori dei limiti compresi tra l'85 per cento e il 115 per cento del contenuto medio e nessuno è fuori dei limiti compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento del contenuto medio.

SAGGIO B

Capsule, polveri non destinate all'uso parenterale, granulati, supposte e ovuli. La preparazione soddisfa al saggio se non più di un contenuto individuale è fuori dei limiti compresi tra l'85 per cento e il 115 per cento del contenuto medio e nessuno è fuori dei limiti compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento del contenuto medio.

Friabilità delle compresse non rivestite

La preparazione non soddisfa al saggio se più di tre contenuti individuali sono fuori dei limiti compresi tra l'85 per cento e il 115 per cento del contenuto medio o se uno o più contenuti individuali sono fuori dei limiti compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento del contenuto medio.

Se due o tre contenuti individuali sono fuori dei limiti compresi tra l'85 per cento e il 115 per cento, ma sono compresi entro i limiti tra il 75 per cento e il 125 per cento, determinare i contenuti individuali su altre venti unità di dosaggio, prelevate a caso. La preparazione soddisfa al saggio se non più di tre contenuti individuali, delle trenta unità, sono fuori dei limiti compresi tra l'85 per cento e il 115 per cento del contenuto medio e nessuno è fuori dei limiti compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento del contenuto medio.

SAGGIO C

Cerotti transdermici. La preparazione soddisfa al saggio se il contenuto medio di dieci unità di dosaggio è compreso tra il 90 per cento e il 110 per cento del contenuto indicato in etichetta e se il contenuto individuale di ciascuna unità di dosaggio è compreso tra il 75 per cento e il 125 per cento del contenuto medio.

2.9.7. FRIABILITÀ DELLE COMPRESSE NON RIVESTITE

Questo capitolo fornisce indicazioni per la determinazione della friabilità di compresse non rivestite ottenute per compressione. Il procedimento di saggio descritto in questo capitolo è, in genere, utilizzabile per la maggior parte delle compresse ottenute per compressione. La misura della friabilità è integrativa di altre misure di resistenza meccanica, ad esempio quelle di resistenza alla rottura.

Utilizzare un tamburo con un diametro interno compreso tra 283 mm e 291 mm ed una profondità di 36-40 mm costruito con un polimero sintetico trasparente con superfici interne lisce e che generi il minimo possibile di elettricità statica. (vedi Figura 2.9.7.-1). Una delle facce del tamburo è rimovibile. Le compresse, ad ogni rotazione del tamburo, sono portate verso l'alto da un deflettore curvo con un raggio interno compreso tra 75,5 mm e 85,5 mm che si estende dal centro del tamburo alla parete esterna. Il diametro esterno dell'anello centrale è di 24,5 - 25,5 mm. Il tamburo è fissato all'asse orizzontale di un dispositivo che ruota a 25 ± 1 giri al minuto. Ne consegue che, ad ogni rotazione, le compresse rotolano o scivolano e cadono sulle pareti del tamburo o una sull'altra.

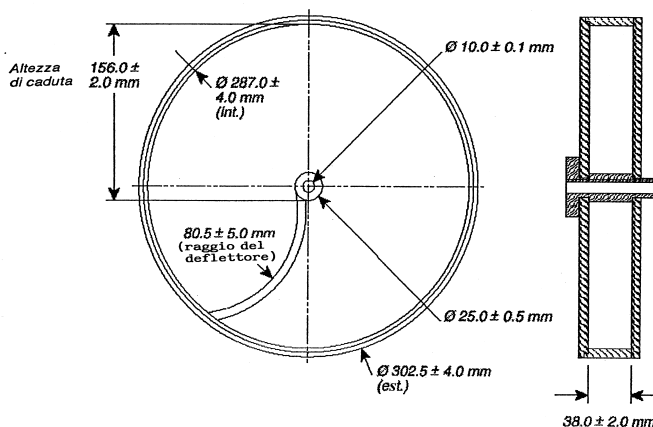


Figura 2.9.7.-1.- *Apparecchio per la determinazione della friabilità*

Per compresse di massa unitaria inferiore o uguale a 650 mg, prelevare un numero di compresse, intere, corrispondenti, il più vicino possibile, ad una massa di 6,5 g. Per compresse di massa unitaria superiore a 650 mg prelevare un campione di 10 compresse intere. Prima del saggio, le compresse devono essere accuratamente depolverate. Pesare accuratamente il campione di compresse e porlo nel tamburo. Far ruotare per 100 volte il tamburo e rimuovere le compresse. Eliminare, dalle compresse, la polvere che si è liberata operando come fatto precedentemente e pesarle di nuovo accuratamente.

Generalmente il saggio si effettua una sola volta. Se, al termine delle rotazioni, nel campione si riscontrano compresse visibilmente incrinare, fessurate o rotte, il campione non ha superato il saggio. Se i risultati sono difficili da interpretare o se la perdita di peso è superiore al valore bersaglio, ripetere il saggio altre due volte e determinare la media delle tre prove. Per la maggior parte dei prodotti è ritenuta accettabile una perdita di massa dell'1 per cento, ottenuta come risultato di un singolo saggio o dalla media di tre saggi.

Se si verificano irregolarità di movimento dovute alla forma od alle dimensioni delle compresse, regolare la posizione del tamburo in modo tale che la base formi un angolo di 10° con il piano orizzontale, per evitare, quando sono in posizione di riposo, l'aggregazione delle compresse che impedisce loro di cadere liberamente.

Relativamente alla friabilità, le compresse effervescenti e le compresse masticabili possono essere oggetto di specifiche particolari. Nel caso di compresse igroscopiche il saggio deve essere condotto in un ambiente ad umidità controllata.

Per la valutazione simultanea di campioni multipli è autorizzato l'impiego di apparecchi a doppio deflettore o a tamburi multipli.

2.9.8. RESISTENZA ALLA ROTTURA DELLE COMPRESSE

Questo saggio si effettua per determinare, in condizioni definite, la resistenza alla rottura delle compresse, misurata dalla forza necessaria per provocare la rottura.

APPARECCHIATURA

L'apparecchio è costituito da due ganasce contrapposte, una delle quali si muove verso l'altra. Le superfici piane delle ganasce sono perpendicolari alla direzione del movimento. Le superfici di rottura delle ganasce sono piane e più larghe della zona di contatto con la compressa. Tarare l'apparecchio utilizzando un sistema che abbia la precisione di 1 newton.

PROCEDIMENTO

Porre la compressa tra le ganasce, tenendo conto, quando possibile, della forma, della linea di frattura e della scritta per incisione; per ogni determinazione orientare la compressa nello stesso modo rispetto alla direzione di applicazione della forza. Effettuare la misura su dieci compresse, avendo cura che tutti i frammenti delle compresse siano stati rimossi prima di ogni determinazione.

Questo procedimento non si applica quando si utilizza un apparecchio interamente automatizzato.

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

I risultati si esprimono come valori medi, minimi e massimi delle forze misurate, in newton.

Indicare il tipo di apparecchio e, se del caso, l'orientamento delle compresse.

2.9.9. MISURA DELLA CONSISTENZA PER PENETROMETRIA

Questo saggio si effettua per misurare, in determinate e convalidate condizioni, la penetrazione di un oggetto nel prodotto in esame contenuto in un recipiente di forma e dimensioni definite.

APPARECCHIATURA

L'apparecchio consiste in un penetrometro che comprende un supporto e una parte mobile penetrante.

Un apparecchio adatto è mostrato in Figura 2.9.9.-1

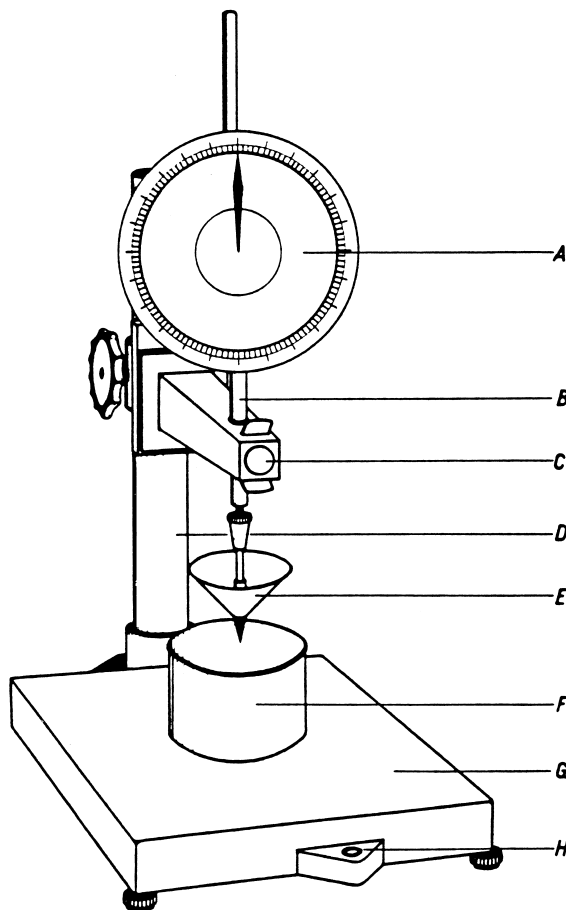


Figura. 2.9.9.-1.- Penetrometro

- A. scala che indica la profondità di penetrazione, graduata in decimi di millimetro,
- B. asta verticale per sostenere e guidare la parte mobile penetrante,
- C. dispositivo per bloccare e rilasciare la parte mobile penetrante automaticamente e per una durata programmata,
- D. dispositivo che assicura la verticalità della parte mobile penetrante e l'orizzontalità della base,
- E. parte mobile penetrante (vedi Figure 2.9.9.-2 e 3),
- F. recipiente,
- G. base orizzontale,
- H. controllo della base orizzontale.

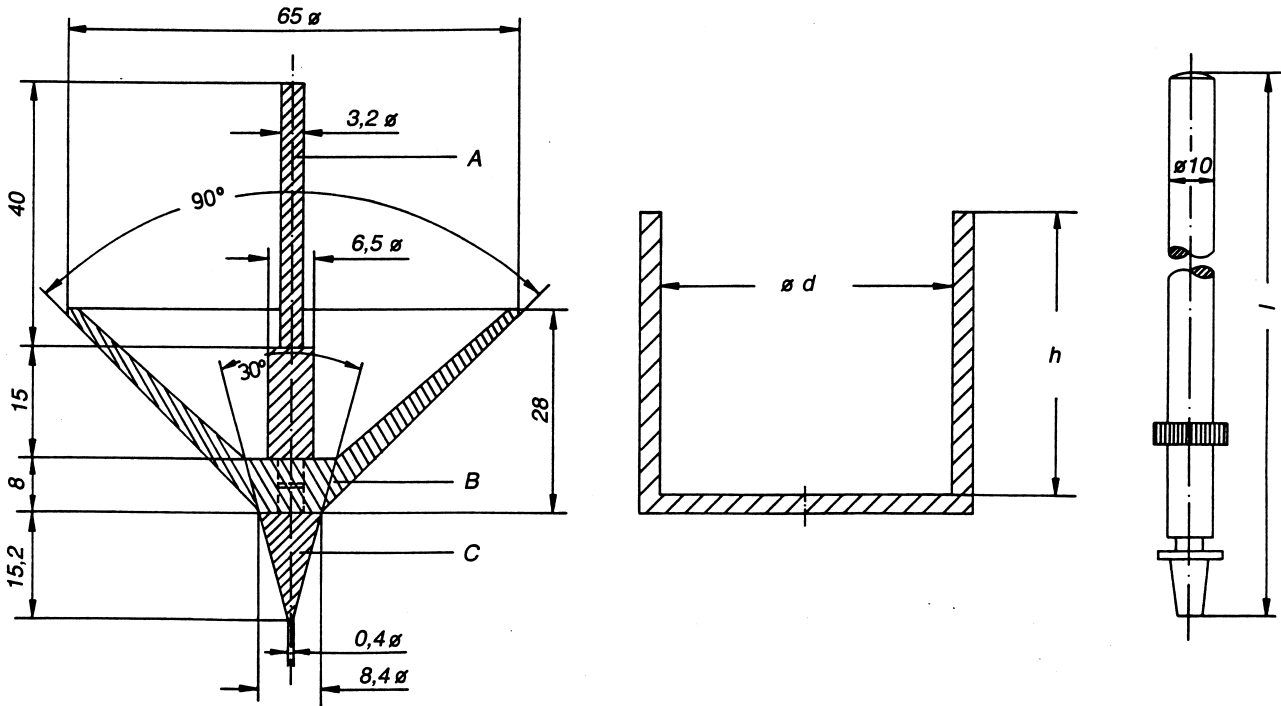


Figura 2.9.9.-2.

Cono ($m = 102,5 \pm 0,05$ g), recipiente ($d = 102$ mm o 75 mm, $h \geq 62$ mm) e asta ($l = 162$ mm; $m = 47,5 \pm 0,05$ g) idonei
Dimensioni in millimetri

Il supporto è costituito da:

- un'asta verticale per sostenere e guidare la parte mobile penetrante,
- una base orizzontale,
- un dispositivo capace di assicurare la verticalità della parte mobile penetrante,
- un dispositivo che permetta di verificare che la base sia orizzontale,
- un dispositivo che blocchi e rilasci la parte mobile penetrante,
- una scala graduata in decimi di millimetro che indichi la profondità della penetrazione.

La parte mobile penetrante, costruita con un materiale adatto, ha una superficie liscia ed è caratterizzata dalla sua forma, dimensione e massa.

Aadatte parti mobili penetranti sono mostrate nelle Figure 2.9.9.-2 e 2.9.9.-3.

PROCEDIMENTO

Preparare i campioni in esame in uno dei modi seguenti:

- A. Riempire con cura e completamente tre recipienti senza che si formino bolle d'aria. Livellare, se necessario, per ottenere una superficie piana. Conservare i campioni, se non è diversamente prescritto, a $25 \pm 0,5$ °C per 24 h.
- B. Conservare tre campioni a $25 \pm 0,5$ °C per 24 h se non è diversamente prescritto. Sottoporre i campioni ad una forza di taglio appropriata per 5 min.

Riempire con cura e completamente tre recipienti, senza che si formino bolle di aria, e se necessario livellare la superficie in modo da ottenere una superficie piana.

- C. Fondere tre campioni e riempire con cura e completamente tre recipienti, senza che si formino bolle d'aria. Conservare i campioni, se non è diversamente prescritto, a $25 \pm 0,5$ °C per 24 h.

Determinazione della profondità di penetrazione

Collocare il campione in esame sulla base del penetrometro. Verificare che la sua superficie sia perpendicolare all'asse verticale della parte mobile penetrante. Portare la temperatura della parte mobile a $25 \pm 0,5$ °C e poi aggiustare la sua posizione in modo tale che la punta tocchi appena la superficie del campione. Rilasciare la parte mobile e mantenerla libera per 5 s. Fissare nuovamente e misurare la profondità di penetrazione. Ripetere il saggio con i due recipienti rimanenti.

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

La profondità della penetrazione si esprime in decimi di millimetro, come media aritmetica delle tre misure. Se qualcuno dei risultati individuali differisce dalla media per più del ± 3 per cento, ripetere il saggio ed esprimere i risultati indicando la media delle sei determinazioni e la deviazione standard relativa.

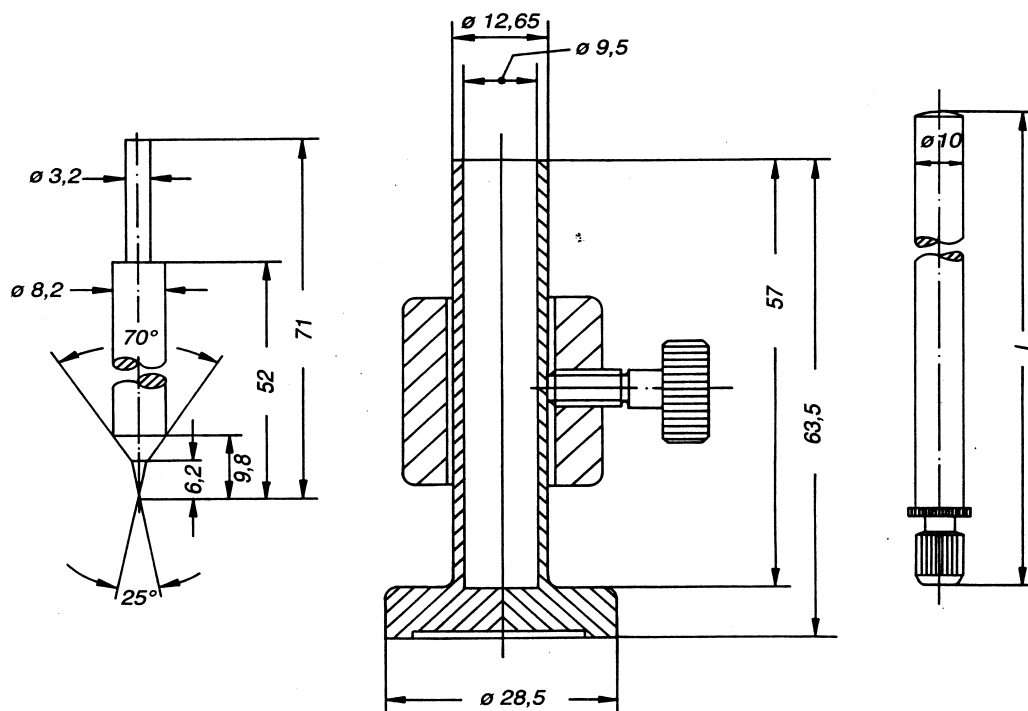


Figura 2.9.9.-3.

Micro-cono ($m = 7,0$ g), con recipiente e asta idonei ($l = 116$ mm; $m = 16,8$ g)

2.9.10. CONTENUTO DI ETANOLO E TABELLE ALCOOLIMETRICHE

Questo metodo serve solo per esaminare preparazioni farmaceutiche liquide che contengono etanolo. Queste preparazioni contengono anche sostanze disciolte che devono essere separate dall'etanolo che deve essere determinato per distillazione. Qualora con la distillazione si raccolgano sostanze volatili diverse da etanolo e acqua, le opportune precauzioni da prendere vengono fissate nella monografia.

Il contenuto in etanolo di un liquido viene espresso come il numero di volumi di etanolo contenuti in 100 volumi di liquido, misurati a $20 \pm 0,1$ °C. Questo numero si definisce come "percentuale in volume di etanolo" (per cento V/V). Il contenuto può essere espresso anche in grammi di etanolo per 100 g di liquido; questo è noto come "percentuale in massa di etanolo" (per cento m/m).

La relazione fra la densità a $20 \pm 0,1$ °C, la densità relativa (corretta al vuoto) e il contenuto in etanolo di una miscela di acqua ed etanolo è riportata nelle tabelle della Organizzazione Internazionale per la Metrologia Ufficiale (1972), Raccomandazione Internazionale N. 22.

Apparecchiatura. L'apparecchio (vedi Figura 2.9.10.-1) consiste in un pallone a fondo tondo (A) collegato con una testa di distillazione (B) provvista di una trappola per il vapore e raccordata a sua volta con un refrigerante verticale (C) che termina all'estremità inferiore con un tubo (D) che porta il distillato al fondo di un pallone tarato da 100 ml o da 250 ml. Il pallone tarato, durante la distillazione, è immerso in una miscela di acqua e ghiaccio (E). Sotto il pallone (A) si pone un disco con un'apertura circolare del diametro di 6 cm, per ridurre il rischio di carbonizzazione di qualche sostanza disciolta.

Metodo

Metodo picnometrico. Versare nel pallone di distillazione 25,0 ml della preparazione in esame, misurati a $20 \pm 0,1$ °C; diluire con 100-150 ml di *acqua distillata R* ed aggiungere alcuni pezzetti di pomice. Collegare la testa di distillazione e il refrigerante; distillare raccogliendo non meno di 90 ml di distillato in un pallone tarato da 100 ml. Portare la temperatura a $20 \pm 0,1$ °C e diluire a 100,0 ml con *acqua distillata R* a $20 \pm 0,1$ °C. Determinare la densità relativa a $20 \pm 0,1$ °C con un picnometro.

I valori indicati in Tabella 2.9.10.-1, colonna 3, sono moltiplicati per quattro per ottenere la percentuale di etanolo in volume (V/V) contenuta nella preparazione.

Contenuto di etanolo e tabelle alcoolimetriche

Dopo aver calcolato il contenuto in etanolo usando la tabella, arrotondare il risultato alla prima cifra decimale.

Metodo densimetrico. Versare nel pallone di distillazione 50,0 ml della preparazione in esame, misurati a $20 \pm 0,1$ °C, aggiungere 200 - 300 ml di *acqua distillata R* e distillare, come descritto prima, raccogliendo non meno di 180 ml in un pallone tarato. Portare la temperatura a $20 \pm 0,1$ °C e diluire a 250,0 ml con *acqua distillata R* a $20 \pm 0,1$ °C.

Travasare il distillato in un cilindro il cui diametro è di almeno 6 mm più largo del bulbo dell'aerometro. Se il volume è insufficiente, raddoppiare la quantità del campione e diluire il distillato a 500,0 ml con *acqua distillata R* a $20 \pm 0,1$ °C.

Moltiplicare per cinque in modo da tener conto della diluizione effettuata durante la determinazione. Dopo aver calcolato il contenuto in etanolo usando la Tab. 2.9.10.-1 arrotondare il risultato alla prima cifra decimale.

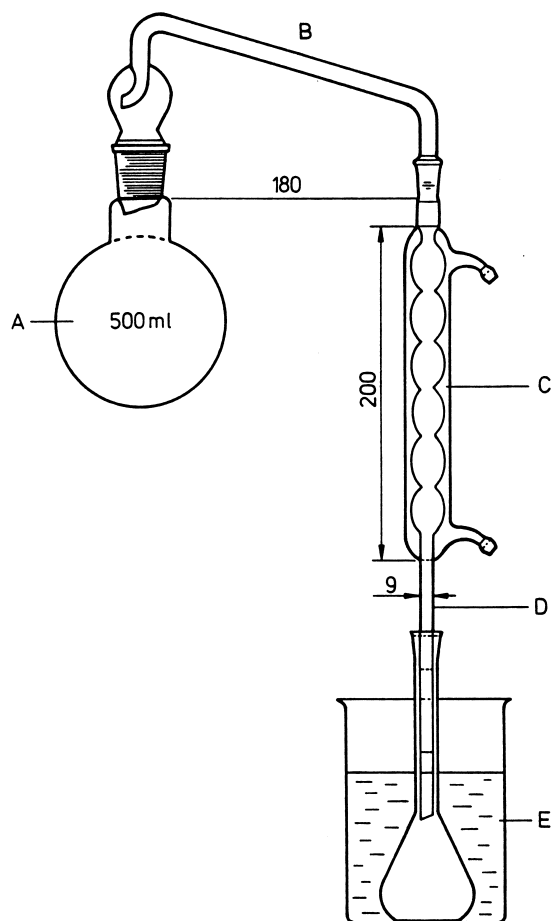


Figura 2.9.10.-1.- *Apparecchio per la determinazione del contenuto in etanolo*
Dimensioni in millimetri

Tabella 2.9.10.-1.- *Relazione fra densità, densità relativa e contenuto in etanolo*

ρ_{20} ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	Densità relativa del distillato misurata all'aria d_{20}^{20}	Contenuto di Etanolo per cento V/V a 20 °C
968,0	0,9697	25,09
968,5	0,9702	24,64
969,0	0,9707	24,19
969,5	0,9712	23,74
970,0	0,9717	23,29
970,5	0,9722	22,83
971,0	0,9727	22,37
971,5	0,9733	21,91
972,0	0,9738	21,45
972,5	0,9743	20,98
973,0	0,9748	20,52
973,5	0,9753	20,05
974,0	0,9758	19,59
974,5	0,9763	19,12
975,0	0,9768	18,66
975,5	0,9773	18,19
976,0	0,9778	17,73
976,5	0,9783	17,25
977,0	0,9788	16,80
977,5	0,9793	16,34
978,0	0,9798	15,88
978,5	0,9803	15,43
979,0	0,9808	14,97
979,5	0,9813	14,52
980,0	0,9818	14,07
980,5	0,9823	13,63
981,0	0,9828	13,18
981,5	0,9833	12,74
982,0	0,9838	12,31
982,5	0,9843	11,87
983,0	0,9848	11,44
983,5	0,9853	11,02
984,0	0,9858	10,60
984,5	0,9863	10,18
985,0	0,9868	9,76
985,5	0,9873	9,35
986,0	0,9878	8,94
986,5	0,9883	8,53
987,0	0,9888	8,13
987,5	0,9893	7,73
988,0	0,9898	7,34
988,5	0,9903	6,95
989,0	0,9908	6,56
989,5	0,9913	6,17
990,0	0,9918	5,79
990,5	0,9923	5,42
991,0	0,9928	5,04
991,5	0,9933	4,67
992,0	0,9938	4,30
992,5	0,9943	3,94
993,0	0,9948	3,58
993,5	0,9953	3,22
994,0	0,9958	2,86
994,5	0,9963	2,51
995,0	0,9968	2,16
995,5	0,9973	1,82
996,0	0,9978	1,47
996,5	0,9983	1,13
997,0	0,9988	0,80
997,5	0,9993	0,46
998,0	0,9998	0,13

2.9.11. SAGGIO PER METANOLO E 2-PROPANOLO

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione dello standard interno. Preparare una soluzione contenente 2,5 per cento V/V di *propanolo R* in *etanolo RI*.

Soluzione in esame (a). Aggiungere, ad una aliquota del distillato, 2,0 ml di standard interno; aggiustare il contenuto di etanolo (2.9.10) a 10,0 per cento V/V per diluizione a 50 ml con *acqua R* o per aggiunta di *etanolo RI*.

Soluzione in esame (b). Aggiustare il contenuto di etanolo (2.9.10) di una aliquota del distillato a 10,0 per cento V/V per diluizione a 50 ml con *acqua R* o per aggiunta di *etanolo RI*.

Soluzione di riferimento (a). Preparare 50 ml di una soluzione contenente 2,0 ml di standard interno, 3,0 ml di *etanolo RI*, 0,05 per cento V/V di *2-propanolo R* e *metanolo anidro R* in quantità sufficiente per dare un totale di 0,05 per cento V/V di metanolo, tenendo conto del contenuto in metanolo dell'*etanolo RI*.

Soluzione di riferimento (b). Preparare una soluzione al 10,0 per cento V/V di *etanolo RI* che contenga lo 0,0025 per cento V/V sia di *metanolo R* che di *2-propanolo R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

Colonna:

- *materiale:* silice fusa,
- *dimensione:* $l = 30\text{ m}$, $\varnothing = 0,53\text{ mm}$,
- *fase stazionaria:* poli[(cianopropil)(fenil)][dimetil]silossano *R* (spessore del film 3 μm).

Gas di trasporto: elio per cromatografia *R*.

Velocità di flusso: 2 ml/min.

Rapporto di separazione: 1:10.

Temperatura:

	Tempo (min.)	Temperatura (°C)
Colonna	0-5 5-15	35 35→85
Camera di iniezione		250
Rivelatore		250

Rivelatore: ionizzazione di fiamma.

Iniezione: 1,0 μl .

Idoneità del sistema:

- *propanolo:* non c'è picco corrispondente al propanolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b),
- *rapporto picco-valle:* minimo 15 dove H_p = altezza sopra la linea di base del picco dovuto al 2-propanolo e H_v = altezza sopra la linea di base del punto più basso della curva che separa questo picco da quello dovuto all'etanolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a),
- *rapporto segnale-rumore:* minimo 10 per i picchi dovuti a metanolo e a 2-propanolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

Il contenuto di metanolo e di 2-propanolo viene calcolato in riferimento al campione originale.

2.9.12. CLASSIFICAZIONE GRANULOMETRICA DELLE POLVERI MEDIANTE SETACCIA-TURA

Il grado di finezza di una polvere può essere espresso facendo riferimento a setacci conformi alle specifiche dei setacci per operazioni non analitiche (2.1.4).

Quando il grado di finezza delle polveri è determinato per setacciatura, esso è definito, in relazione al numero o ai numeri del o dei setacci utilizzati, con uno dei termini sottoelencati o, quando tali termini non possono essere usati, esprimendo la finezza della polvere come percentuale (m/m) che passa attraverso il(i) setaccio(i) utilizzato(i).

I seguenti termini sono utilizzati per la descrizione delle polveri:

Polvere grossolana. Non meno del 95 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 1400 e non più del 40 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 355.

Polvere moderatamente fine. Non meno del 95 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 355 e non più del 40 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 180.

Polvere fine. Non meno del 95 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 180 e non più del 40 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 125.

Polvere molto fine. Non meno del 95 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 125 e non più del 40 per cento in massa della polvere passa attraverso il setaccio numero 90.

Area superficiale specifica per permeabilità all'aria

Se viene indicato il numero di un solo setaccio, salvo indicazione contraria, non meno del 97 per cento della polvere passa attraverso il setaccio di quel numero.

Montare i setacci e operare in maniera adatta fino a setacciatura praticamente completa. Pesare le frazioni separate della polvere.

2.9.14. AREA SUPERFICIALE SPECIFICA PER PERMEABILITÀ ALL'ARIA

Il saggio si effettua per la determinazione dell'area superficiale specifica di polveri secche, espressa in metri quadrati per grammo, quando il campo di granulometria è inferiore alla più piccola apertura delle maglie di un setaccio. L'effetto prodotto dal flusso molecolare, che può essere importante quando si analizzano polveri di granulometria inferiore a pochi micron, non è preso in considerazione nell'equazione usata per calcolare l'area superficiale specifica.

APPARECCHIATURA

L'apparecchio è costituito dalle parti seguenti:

(a) una *cella di permeabilità* (vedi Figura 2.9.14.-1) composta da un cilindro del diametro interno di $12,6 \pm 0,1$ mm (A) di vetro o di metallo inalterabile. La base della cella forma una connessione a tenuta d'aria (per esempio, attraverso un adattatore) con il manometro (Figura 2.9.14.-2). Una espansione della larghezza di 0,5-1 mm è situata a 50 ± 15 mm dalla sommità della cella. Costituisce parte integrante della cella oppure è fissata saldamente, così da essere a tenuta d'aria. Sostiene un disco perforato (B), di metallo inalterabile, dello spessore di $0,9 \pm 0,1$ mm, perforato con 30-40 fori del diametro di 1 mm uniformemente distribuiti sulla sua superficie.

Il pistone (C) è fatto di metallo inalterabile ed entra nella cella con una distanza dalla parete di non più di 0,1 mm. La base del pistone ha bordi affilati quadrati, ad angolo retto rispetto all'asse principale. Su un lato del pistone c'è una fessura per l'aria lunga 3 mm e profonda 0,3 mm. La parte superiore del pistone ha un collare tale che, quando il pistone è collocato nella cella e il collare è portato a contatto con la sommità della cella stessa, la distanza fra la base del pistone e la parte superiore del disco perforato (B) sia di 15 ± 1 mm.

I dischi di carta da filtro (D) hanno bordi lisci e lo stesso diametro dell'interno della cella.

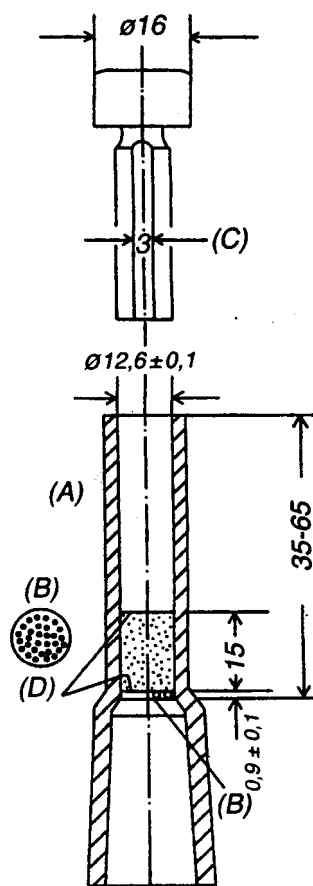


Figura 2.9.14.-1.
Cella di permeabilità
Dimensioni in millimetri

(b) Un *manometro ad U* (E) (Fig. 2.9.14.-2) fatto con tubo di vetro con pareti standard del diametro nominale esterno di 9 mm e interno di 7 mm. La parte superiore di un braccio del manometro forma una connessione stagna con la cella di permeabilità (F). Il braccio del manometro connesso con la cella di permeabilità ha una linea incisa intorno al tubo a 125-145 mm sotto l'estremità superiore del lato di uscita e tre altre linee a distanza di 15 mm, 70 mm e 110 mm sopra quella linea (G). L'uscita laterale, a 250-305 mm sopra la base del manometro, è usata per vuotare il braccio del manometro connesso con la cella di permeabilità. Sull'uscita laterale, a non più di 50 mm dal braccio del manometro, c'è un rubinetto.

Il manometro è montato saldamente, in modo tale che i bracci siano verticali. È riempito fino al segno più basso con *dibutile ftalato R* contenente un colorante lipofilo.

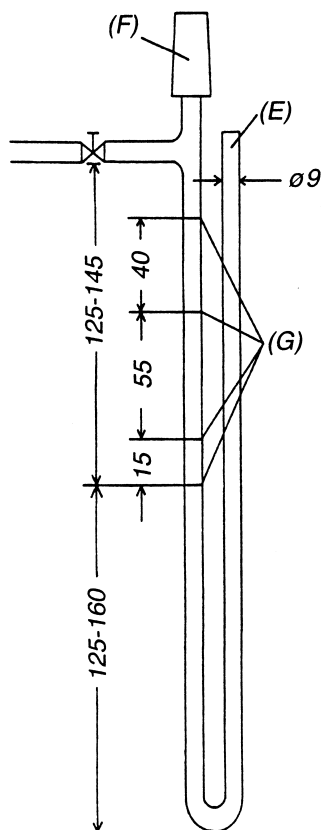


Figura 2.9.14. - 2. Manometro
Dimensioni in millimetri

METODO

Se prescritto, essiccare la polvere in esame e farla passare attraverso un setaccio adatto (per esempio, n. 125) per disperdere gli agglomerati. Calcolare la massa (M) della polvere da usare mediante l'espressione:

$$M = V \times \rho \times (1 - \varepsilon) \quad (1)$$

V = volume totale del letto compattato di polvere,

ρ = densità della sostanza in esame in grammi per millilitro,

ε = porosità del letto compattato di polvere.

Assumere dapprima una porosità di 0,5 e introdurre questo valore nell'Eq. (1) per calcolare la massa (M) della polvere in esame.

Porre un disco di carta da filtro sopra il disco metallico perforato (B). Pesare la massa calcolata (M) della polvere in esame con l'approssimazione a 1 mg. Trasferire con cura la polvere nella cella di permeabilità pulita e tarata, battendo leggermente la cella stessa così che la superficie del letto di polvere si livelli e coprirlo con un secondo disco di carta da filtro. Compattare lentamente la polvere per mezzo del pistone, evitando movi-

menti di rotazione. Mantenere la pressione finché il pistone è completamente entrato nella cella. Se questo non fosse possibile, diminuire la quantità di polvere usata. Se, al contrario, non ci fosse sufficiente resistenza, aumentare la quantità di polvere. In questo caso calcolare nuovamente la porosità. Dopo almeno 10 s, rimuovere il pistone.

Collegare la cella di permeabilità al tubo del manometro con un giunto a tenuta d'aria. Eliminare l'aria dal manometro con una peretta di gomma finché il livello del liquido colorato è al segno superiore. Chiudere il rubinetto e controllare la tenuta dell'apparecchio chiudendo l'estremità superiore della cella, per esempio con un tappo di gomma. Togliere il tappo e, con un cronometro, misurare il tempo necessario perché il liquido scenda dal secondo al terzo segno.

In base al tempo di flusso misurato, calcolare l'area superficiale specifica (S), espressa in metri quadrati per grammo, dall'equazione seguente:

$$S = \frac{K \times \sqrt{\varepsilon^3} \times \sqrt{t}}{\rho \times (1 - \varepsilon) \times \sqrt{\eta}} \quad (2)$$

t = tempo di flusso in secondi,

η = viscosità dinamica dell'aria in millipascal secondi (vedi Tabella 2.9.14.-1).

K = costante dell'apparecchio, determinata con l'Eq. (4),

ρ = densità della sostanza in esame in grammi per millilitro,

ε = porosità del letto compattato di polvere.

TARATURA DELL'APPARECCHIO

Il **volume complessivo del letto di polvere compattata** viene determinato col metodo di spostamento del mercurio come segue:

mettere due dischi di carta da filtro nella cella di permeabilità premendone i bordi con una bacchetta di diametro leggermente più piccolo di quello della cella finché i dischi giacciono piatti sul disco metallico perforato; riempire la cella con mercurio, allontanando ogni bolla d'aria che aderisse alle pareti della cella ed eliminare l'eccesso fino ad ottenere una superficie piana di mercurio alla sommità della cella. Se la cella è fatta di materiale che può dare amalgama, rivestire prima la cella e il disco perforato di metallo con un sottile strato di paraffina liquida. Versare il mercurio in un bicchiere tarato e determinare la massa (M_A) e la temperatura del mercurio.

Volume apparente

Con la polvere di riferimento fare un letto compattato e di nuovo riempire la cella con mercurio con una superficie piana nella parte superiore. Versare il mercurio in un bicchiere tarato e di nuovo determinare la massa (M_B) del mercurio. Calcolare il volume complessivo (V) del letto di polvere compattata dall'espressione seguente:

$$V = \frac{M_A - M_B}{\rho_{Hg}} \quad (3)$$

$M_A - M_B$ = differenza fra le masse di mercurio determinate, in grammi,

ρ_{Hg} = densità del mercurio ad una data temperatura, in grammi per millilitro.

Ripetere la procedura due volte, cambiando ogni volta la polvere; il campo dei valori per il volume calcolato (V) non deve essere maggiore a 0,01 ml. Per i calcoli, usare il valore medio di tre determinazioni.

La costante K dell'apparecchio viene determinata usando una polvere di riferimento, con area specifica e densità note, operando come segue:

calcolare la quantità necessaria della polvere di riferimento da usare (Eq. 1) utilizzando la densità dichiarata e il volume determinato del letto di polvere compattata (Eq. 3).

Omogeneizzare e disperdere la polvere agitandola per 2 min in una bottiglia da 100 ml. Preparare un letto di polvere compattata e misurare il tempo di flusso dell'aria, come descritto in precedenza. Calcolare la costante dell'apparecchio (K) dall'espressione seguente:

$$K = \frac{S_{sp} \times \rho \times (1 - \varepsilon) \times \sqrt{\eta}}{\sqrt{\varepsilon^3} \times \sqrt{t}} \quad (4)$$

S_{sp} = area superficiale specifica indicata della polvere di riferimento,

ρ = densità della sostanza in esame in grammi per millilitro,

ε = porosità del letto di polvere compattato,

t = tempo di flusso in secondi,

η = viscosità dinamica dell'aria in millipascal secondi (vedi Tabella 2.9.14.-1).

La densità del mercurio e la viscosità dell'aria ad alcune temperature sono mostrate in Tabella 2.9.14.-1.

Tabella 2.9.14.-1.

Temperatura (°C)	Densità del mercurio (g/ml)	Viscosità dell'aria (η) (mPa·s)	$\sqrt{\eta}$
16	13.56	0.01800	0.1342
17	13.56	0.01805	0.1344
18	13.55	0.01810	0.1345
19	13.55	0.01815	0.1347
20	13.55	0.01819	0.1349
21	13.54	0.01824	0.1351
22	13.54	0.01829	0.1353
23	13.54	0.01834	0.1354
24	13.54	0.01839	0.1356

2.9.15. VOLUME APPARENTE

Il saggio del volume apparente si effettua per determinare, in condizioni definite, i volumi apparenti prima e dopo impaccamento, la capacità di impaccarsi e le densità apparenti di solidi suddivisi (per esempio polveri, granuli).

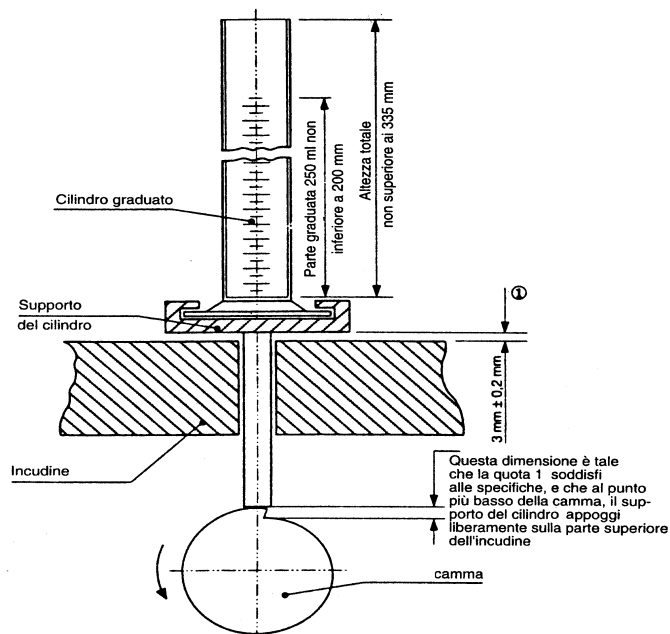


Figura 2.9.15.-1.

APPARECCHIATURA

L'apparecchiatura (vedi Figura 2.9.15.-1) è costituita da:

- un apparecchio di impaccamento capace di generare in 1 min 250 ± 15 colpi, mediante caduta da un'altezza di $3 \pm 0,2$ mm. Il supporto per il cilindro graduato, compreso il dispositivo di bloccaggio, ha una massa di 450 ± 5 g;
- un cilindro graduato da 250 ml (con divisioni ogni 2 ml) la cui massa è di 220 ± 40 g.

METODO

Introdurre nel cilindro asciutto, senza impaccare, 100,0 g (*m* g) della sostanza in esame. Se questo non è possibile, scegliere una quantità di campione in esame che abbia un volume apparente compreso tra 50 e 250 ml e specificare la massa nell'espressione dei risultati. Fissare il cilindro sul suo supporto. Leggere il volume apparente V_0 non impaccato, approssimando al più vicino millilitro. Mettere in azione l'apparecchio generando 10, 500 e 1250 colpi e leggere i volumi corrispondenti V_{10} , V_{500} e V_{1250} approssimando al più vicino millilitro. Se la differenza tra V_{500} e V_{1250} è superiore a 2 ml, effettuare altri 1250 colpi.

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

a) Volumi apparenti:

- volume apparente prima dell'impaccamento o volume del campione come tale: V_0 ml,
- volume apparente dopo impaccamento o volume impaccato: V_{1250} ml o V_{2500} ml.

b) Capacità di impaccamento: differenza V_{10} ml - V_{500} ml.

c) Densità apparenti:

le densità apparenti vengono espresse come segue:

- densità apparente prima dell'impaccamento o densità del campione come tale: m/V_0 (espresso in grammi per millilitro) (densità al versamento).
- densità apparente dopo impaccamento o densità del prodotto impaccato: m/V_{1250} o m/V_{2500} (espresso in grammi per millilitro) (densità compattata).

2.9.16. SCORRIMENTO

Il saggio di scorrimento si effettua per determinare la capacità dei solidi suddivisi (per esempio polveri e granuli) a scorrere verticalmente in condizioni definite.

Apparecchiatura. Secondo le caratteristiche di scorrimento del materiale da saggiare, usare imbuto con o senza gambo, con differenti angoli e orifizi di diversi diametri. Apparecchi tipici sono riportati nelle Figure 2.9.16.-1 e 2.9.16.-2. L'imbuto viene mantenuto verticale con un opportuno dispositivo. L'insieme deve essere protetto da vibrazioni.

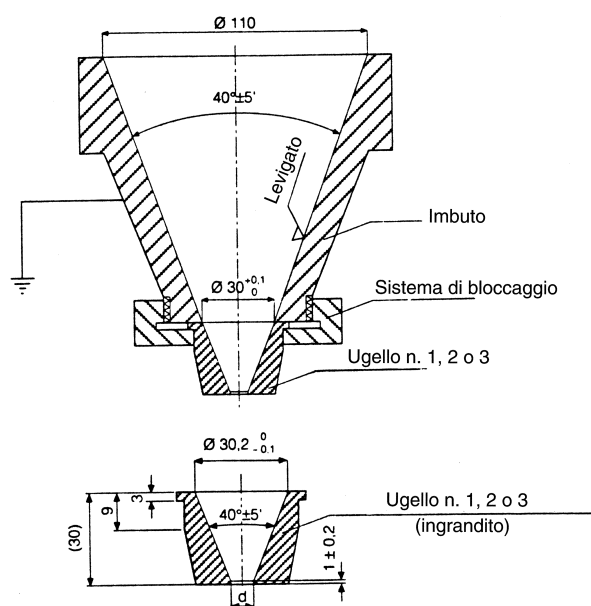


Figura 2.9.16.-1.- Imbuto di scorrimento e ugello
L'ugello è fatto di acciaio inossidabile, acidoresistente (V4A, CrNi)
Dimensioni in millimetri

Ugello	Diametro (d) dell'apertura di uscita (millimetri)
1	10 ± 0,01
2	15 ± 0,01
3	25 ± 0,01

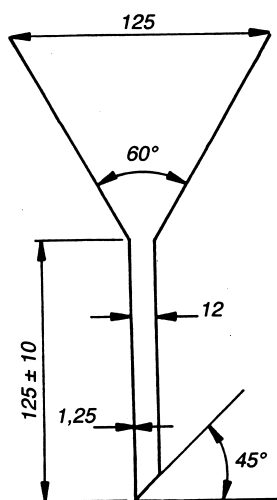


Figura 2.9.16.-2.
Dimensioni in millimetri

METODO

Introdurre in un imbuto asciutto, la cui apertura alla base è stata ostruita opportunamente, senza compattare, un campione in esame pesato con l'accuratezza dello 0,5 per cento. La quantità del campione dipende dal volume apparente e dall'apparecchio usato. Sbloccare l'apertura inferiore dell'imbuto e misurare il tempo necessario perché l'intero campione defluisca dall'imbuto. Effettuare tre determinazioni.

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

La capacità di scorrimento viene espressa in secondi e decimi di secondo, riferita a 100 g di campione.

I risultati dipendono dalle condizioni di conservazione del materiale in esame.

I risultati possono essere espressi:

- a) come la media delle determinazioni, se nessuno dei singoli valori si scosta dalla media di più del 10 per cento;
- b) come un intervallo di valori, se i singoli valori si scostano dalla media di più del 10 per cento;
- c) come un grafico della massa in funzione del tempo di flusso;
- d) come un tempo infinito, se l'intero campione non defluisce dall'apparecchio.

2.9.17. SAGGIO PER IL VOLUME ESTRAIBILE DELLE PREPARAZIONI PARENTERALI

Le soluzioni iniettabili possono essere fornite in contenitori monodose (come fiale, siringhe preriempite o cartucce) riempiti con un volume di soluzione iniettabile sufficiente a consentire la somministrazione del volume nominale dichiarato in etichetta.

La conformità con le specifiche per il volume estraibile è assicurata dal riempimento con un volume in lieve eccesso rispetto al volume che deve essere prelevato. L'eccesso di volume è stabilito in base alle caratteristiche del prodotto. Il recipiente monodose non contiene,

in rapporto al volume dichiarato, una quantità di preparazione che potrebbe rappresentare un rischio qualora venisse somministrato l'intero contenuto.

Le sospensioni e le emulsioni devono essere agitate prima del prelevamento del contenuto e prima della determinazione della densità. Le preparazioni oleose o viscosi possono essere riscaldate, se necessario, secondo le istruzioni riportate sull'etichetta e agitate energicamente immediatamente prima del prelevamento del contenuto. Questo viene poi raffreddato a 20–25 °C prima di misurare il volume.

CONTENITORI MONODOSE

Scegliere un contenitore se il volume nominale è di 10 ml o più, tre contenitori se il volume nominale è più di 3 ml e meno di 10 ml o cinque contenitori se il volume nominale è di 3 ml o meno. Prelevare singolarmente il contenuto totale di ciascun contenitore scelto con una siringa ipodermica asciutta di capacità non superiore a tre volte il volume da misurare e munita di un ago di calibro 21 e di lunghezza non inferiore a 2,5 cm. Espellere tutte le bolle d'aria dalla siringa e dall'ago, poi travasare il contenuto della siringa, senza vuotare l'ago, in un cilindro normalizzato asciutto (graduato per contenere piuttosto che per rilasciare i volumi indicati) di dimensione tale che il volume da misurare occupi almeno il 40 per cento del suo volume graduato. Il volume del contenuto in millilitri può anche essere calcolato come la massa in grammi divisa per la densità.

Per contenitori con un volume nominale di 2 ml o meno, i contenuti di un numero sufficiente di contenitori possono essere riuniti per ottenere il volume richiesto per la misura purché per ciascun contenitore venga usata una singola siringa con ago. I contenuti di contenitori da 10 ml o più si possono determinare aprendo i contenitori e vuotando i contenuti direttamente nel cilindro graduato o nel becher tarato.

Il volume non è inferiore al volume nominale nel caso di contenitori esaminati singolarmente o, nel caso di contenitori con un volume nominale di 2 ml o meno, non è inferiore alla somma dei volumi nominali dei contenitori considerati insieme.

CONTENITORI MULTIDOSE

Per preparazioni iniettabili in contenitori multidose per i quali l'etichetta stabilisca un dato numero di dosi di un volume fissato, scegliere un contenitore e procedere come indicato per contenitori monodose utilizzando un numero di singole siringhe con ago corrispondente al numero di dosi indicato.

Il volume è tale che ciascuna siringa rilascia non meno della dose fissata.

CARTUCCE E SIRINGHE PRERIEMPITE

Scegliere un contenitore se il volume nominale è 10 ml o più, tre contenitori se il volume nominale è più di 3 ml e meno di 10 ml oppure cinque contenitori se il volume nominale è di 3 ml o meno. Se necessario, dotare i contenitori degli accessori necessari per il loro uso (ago, pistone, siringa) e trasferire l'intero contenuto di ciascun contenitore, senza vuotare l'ago, in un becher tarato asciutto premendo lentamente e regolarmente il pistone. Determinare il volume in millilitri, calcolato dalla massa in grammi divisa per la densità.

Il volume misurato per ciascuno dei contenitori non è inferiore al volume nominale.

INFUSIONI PARENTERALI

Scegliere un contenitore. Trasferire il contenuto in un cilindro graduato asciutto di capacità tale che il volume da misurare occupi almeno il 40 per cento del volume nominale del cilindro. Misurare il volume trasferito.

Il volume misurato non è inferiore al volume nominale.

2.9.18. PREPARAZIONI PER INALAZIONE: VALUTAZIONE AERODINAMICA DELLE PARTICELLE FINI

Questo saggio viene utilizzato per determinare le caratteristiche delle particelle fini negli aerosol generati da preparazioni per inalazione.

Se non è diversamente giustificato ed autorizzato, utilizzare uno dei seguenti apparecchi e procedimenti di controllo.

Le *caratteristiche dimensionali degli stadi* sono oggetto di verifiche periodiche come sono verificate anche le altre dimensioni che giocano un ruolo critico per il buon funzionamento dell'impattatore.

Trattamento superficiale per gli apparecchi D ed E. Per assicurare una cattura efficiente di particelle, rivestire ciascuna piastra con glicerolo, olio di silicone o liquidi simili ad alta viscosità, generalmente depositati da un solvente volatile. Questo trattamento delle piastre deve far parte della convalida del metodo e può essere omissso se giustificato e autorizzato.

Massa totale. La massa totale della sostanza attiva raccolta non può essere inferiore al 75 per cento né superiore al 125 per cento del valore medio ottenuto nel saggio per l'Uniformità della dose rilasciata. Questa richiesta non è relativa alla prestazione dell'inalatore ma permette di garantire la validità dei risultati.

APPARECCHIO A - SEPARATORE AD URTO IN VETRO

L'apparecchio è rappresentato nella Figura 2.9.18.-1 (vedi anche la Tabella 2.9.18.-1).

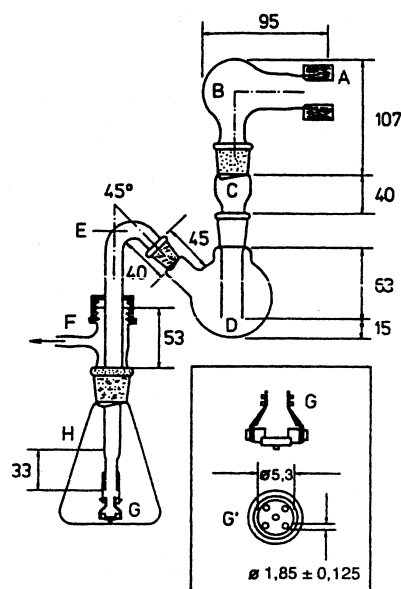


Figura 2.9.18.-1.- *Apparecchio separatore ad urto in vetro*
 Dimensioni in millimetri
 (tolleranza ± 1 mm se non diversamente prescritto)

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

Tabella 2.9.18.-1- Specifiche dei componenti per l'Apparecchio A in Figura 2.9.18.-1.

Codice	Elemento	Descrizione	Dimensioni*
A	Adattatore del boccaglio	Raccordo in gomma, sagomato per il boccaglio dell'erogatore	
B	Gola	Pallone in vetro a fondo tondo opportunamente modificato - <i>Entrata: giunto conico smerigliato femmina</i> - <i>Uscita: giunto conico smerigliato maschio</i>	50 ml 29/32 24/29
C	Collo	Adattatore modificato in vetro - <i>Entrata: giunto conico smerigliato femmina</i> - <i>Uscita: giunto conico smerigliato maschio</i>	24/29 24/29
		Sezione inferiore di uscita del tubo in vetro calibrato - <i>Diametro interno</i>	14
		Tubo in vetro a parete sottile - <i>Diametro esterno</i>	17
D	Camera di separazione superiore	Pallone in vetro a fondo tondo opportunamente modificato - <i>Entrata: giunto conico smerigliato femmina</i> - <i>Uscita: giunto conico smerigliato maschio</i>	100ml 24/29 24/29
E	Tubo di collegamento	Tubo in vetro di medio spessore - <i>Giunto conico smerigliato maschio</i>	14/23
		Parte ricurva e parte verticale superiore - <i>Diametro esterno</i>	13
		Parte verticale inferiore - <i>Diametro esterno</i>	8
F	Collegamento laterale filettato	Tappo a vite in plastica	28/13
		Anello in gomma al silicone	28/11
		Rondella in PTFE	28/11
		Parte filettata in vetro - <i>Dimensioni della filettatura</i>	28
G	Ugello di uscita	Portafiltro modificato in polipropilene collegato alla sezione verticale inferiore del tubo di collegamento per mezzo di un tubo in PTFE	Vedi Figura 2.9.18.-1
		Disco circolare in acetale con i centri dei quattro fori di uscita disposti su un cerchio di diametro di 5,3 mm con uno spaziatore a punta - <i>Diametro della punta</i> - <i>Sporgenza della punta</i>	10 2 2
H	Camera di separazione inferiore	Beuta - <i>Giunto conico smerigliato femmina</i>	250 ml 24/29

* Dimensioni in millimetri, se non diversamente indicato.

Procedimento per nebulizzatori

Introdurre, nelle camere di separazione superiore ed inferiore, rispettivamente 7 ml e 30 ml di un solvente adatto.

Collegare tutte le parti componenti, verificare che il sistema sia verticale e ben fissato e che la punta distanziatrice dell'ugello di uscita tocchi appena il fondo della camera inferiore di separazione. Collegare, all'uscita dell'apparecchio, una pompa adatta munita di filtro (di porosità adeguata) e regolare il flusso dell'aria attraverso l'apparecchio a 60 ± 5 litri al minuto, misurandolo all'entrata della gola.

Introdurre la preparazione liquida per inalazione nel serbatoio del nebulizzatore. Montare il boccaglio del nebulizzatore e collegarlo all'apparecchio per mezzo di un opportuno adattatore.

Avviare la pompa e, dopo 10 s, il nebulizzatore.

Dopo 60 s, salvo indicazione contraria, fermare il nebulizzatore, attendere per circa 5 s, poi arrestare la pompa. Smontare l'apparecchio, lavare la superficie interna della camera di separazione superiore e riunire i liquidi di lavaggio in un matraccio tarato. Lavare la superficie interna della camera di separazione inferiore e riunire i liquidi di lavaggio in un secondo matraccio tarato. Da ultimo, lavare il filtro che precede la pompa e i tubi che la collegano alla camera di separazione inferiore e unire i liquidi di lavaggio a quelli raccolti dalla camera di separazione inferiore. Determinare la quantità di sostanza attiva in ciascuno dei due palloni. Esprimere i risultati per ciascuna delle due parti dell'apparecchio come percentuale della quantità totale di sostanza attiva.

Procedimento per inalatori pressurizzati

Applicare l'adattatore dell'erogatore all'estremità della gola, in modo che il boccaglio dell'erogatore, quando inserito ad una profondità di circa 10 mm, sia allineato con l'asse orizzontale della gola e l'estremità aperta dell'erogatore, che accoglie la bomboletta, sia orientata verso l'alto e sullo stesso piano verticale di tutto l'apparecchio.

Introdurre nelle camere di separazione superiore e inferiore, rispettivamente, 7 ml e 30 ml di un adatto solvente.

Collegare tutte le parti dell'apparecchio e verificare che l'insieme sia verticale e ben fissato e che la punta distanziatrice dell'ugello inferiore tocchi appena il fondo della camera di separazione inferiore. Collegare,

all'uscita dell'apparecchio, una pompa adatta e regolare il flusso dell'aria a 60 ± 5 litri al minuto, misurandolo all'entrata della gola.

Attivare la valvola dosatrice, agitando l'inalatore per 5 s ed erogando una volta a perdere; dopo non meno di 5 s, agitare ed erogare di nuovo a perdere. Ripetere questa operazione per altre tre volte.

Agitare per circa 5 s, avviare la pompa, applicare il boccaglio dell'erogatore all'adattatore e, immediatamente, erogare una volta. Rimuovere l'inalatore assemblato dall'adattatore, agitare per non meno di 5 s, posizionare nuovamente il boccaglio dell'erogatore nell'adattatore e scaricare di nuovo. Ripetere la procedura di erogazione. Il numero di erogazioni non deve essere troppo elevato (in genere non più di 10). Dopo l'ultima erogazione, attendere per non meno di 5 s e poi arrestare la pompa. Smontare l'apparecchio.

Lavare, con un opportuno solvente, la superficie interna del tubo di collegamento con la camera di separazione inferiore e la parte della sua superficie esterna che si trova nella camera, raccogliendo i liquidi di lavaggio nella stessa camera. Determinare il contenuto di sostanza attiva in questa soluzione. Calcolare la quantità di sostanza attiva raccolta nella camera di separazione inferiore per ogni erogazione, esprimendo i risultati come percentuale della dose indicata in etichetta.

Procedimento per inalatori di polvere

Introdurre nella camera di separazione superiore ed inferiore, rispettivamente, 7 ml e 30 ml di un solvente adatto.

Collegare tutte le parti dell'apparecchio e verificare che il sistema sia verticale e ben fissato e che lo spaziatore dell'ugello di uscita inferiore tocchi appena il fondo della camera di separazione inferiore. Prima di applicare l'inalatore, collegare, all'uscita dell'apparecchio, una pompa adatta e regolare il flusso dell'aria a 60 ± 5 litri al minuto, misurandolo all'entrata della gola.

Preparare l'inalatore per l'uso e collegare il boccaglio all'apparecchio per mezzo di un opportuno adattatore. Avviare la pompa per 5 s. Arrestare la pompa e rimuovere l'inalatore. Ripetere la procedura di erogazione. Il numero di erogazioni non deve essere troppo elevato (in genere non più di 10). Smontare l'apparecchio.

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

Lavare, con un solvente adatto, la superficie interna del tubo di collegamento con la camera di separazione inferiore e la parte della sua superficie esterna che si trova nella camera, raccogliendo i liquidi di lavaggio nella stessa camera di separazione inferiore. Determinare il contenuto di sostanza attiva in questa soluzione. Calcolare la quantità di sostanza attiva raccolta nella camera di separazione inferiore per ogni erogazione ed esprimere i risultati come percentuale della dose indicata in etichetta.

Quantità di particelle fini e distribuzione della dimensione particellare

APPARECCHIO C - SEPARATORE AD URTO MULTI-STADIO LIQUIDO

L'apparecchio è costituito dagli stadi di separazione 1 (pre-separatore), 2, 3, 4 e da un ulteriore stadio costituito di un filtro incorporato (stadio 5), vedi Figure 2.9.18.-4/6. Ogni stadio di separazione ad urto comprende una piastra divisoria superiore, orizzontale, di metallo (B), attraverso la quale sporge un ugello metallico di entrata (A) con la sua piastra di separazione (D), un cilindro di vetro (E), munito di un'apertura per il campionamento (F), che forma la parete verticale dello stadio, e una piastra divisoria orizzontale inferiore in metallo (G) attraverso la quale passa un ugello (H) di collegamento con lo stadio inferiore. Il tubo che porta nello stadio 4 (U) finisce con un dispositivo multiugello. La piastra di separazione (D) è tenuta ferma da una struttura metallica (J), legata con due fili metallici (K) ad un manicotto (L) fissato all'ugello. Il piano orizzontale delle piastre di raccolta è perpendicolare all'asse dell'ugello ed allineato al centro. La superficie superiore della piastra di separazione è leggermente sopraelevata rispetto al bordo della struttura metallica. Una rientranza intorno al perimetro della piastra divisoria orizzontale guida la posizione del cilindro di vetro. I cilindri di vetro sono sigillati contro le pareti divisorie orizzontali con guarnizioni (M) e tenuti insieme con sei bulloni (N). Le aperture per il campionamento sono chiuse da tappi. La parte inferiore della piastra di separazione dello stadio 4 ha una sporgenza concentrica fissata con una guarnizione ad anello (O-ring) in gomma (P) che la chiude ermeticamente contro il bordo di un filtro posto nel portafiltro. Il portafiltro (R) è costruito

come una bacinella con una rientranza concentrica nella quale è inserito un supporto perforato per filtro (S). Il portafiltro ha dimensioni adatte per filtri di diametro di 76 mm. L'insieme degli stadi di separazione è fissato al portafiltro con due chiusure a gancio (T). Un condotto d'immissione (vedi la Figura 2.9.18.-7) è collegato all'ugello di entrata dello stadio 1 del separatore. Una guarnizione ad anello (O-ring) di gomma sull'ugello fornisce una connessione a tenuta d'aria con il condotto di immissione. Un opportuno adattatore del bocchaglio viene impiegato per permettere una chiusura a tenuta d'aria tra l'inalatore ed il condotto di immissione. La parte frontale del bocchaglio dell'inalatore deve essere a livello con il lato frontale del condotto di immissione.

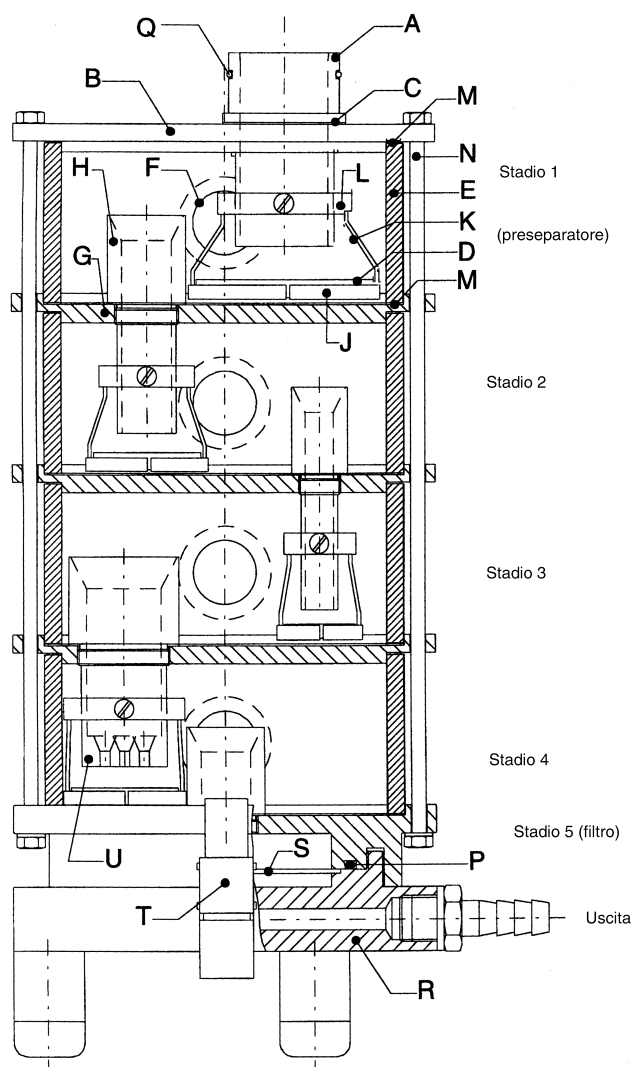


Figura 2.9.18.-4. *Apparecchio C: separatore ad urto multistadio liquido.*

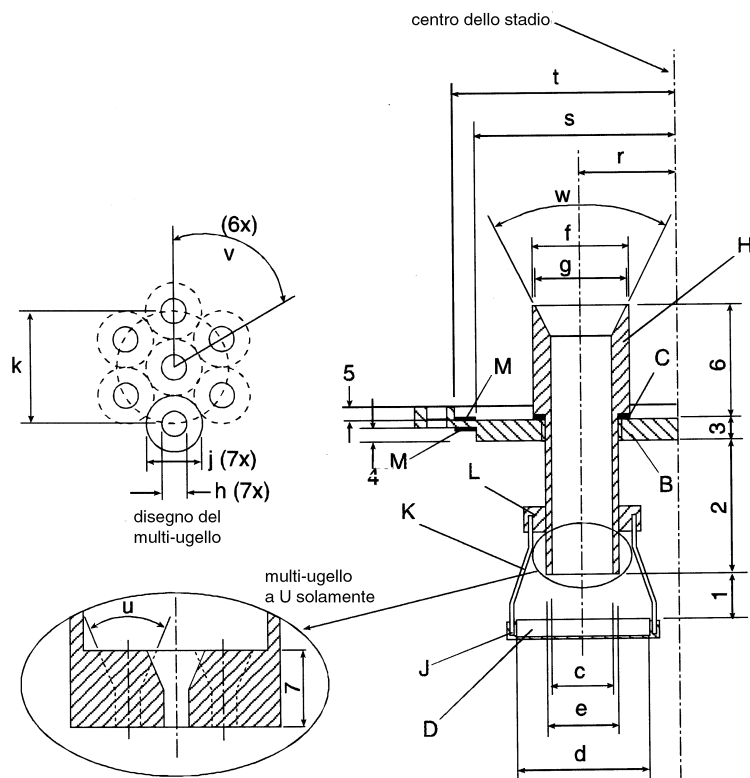


Figura 2.9.18.-5. *Apparecchio C: dettagli dell'ugello e della piastra di separazione.*

Gli inserti mostrano la fine del tubo multi-ugello ad U che porta allo stadio 4 (lettere minuscole e numeri si riferiscono alla Tabella 2.9.18-3 e lettere maiuscole alla Figura 2.9.18.-4).

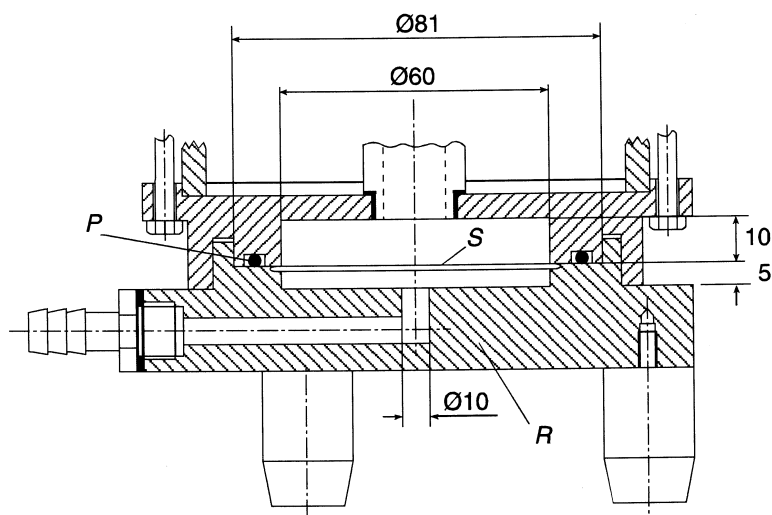
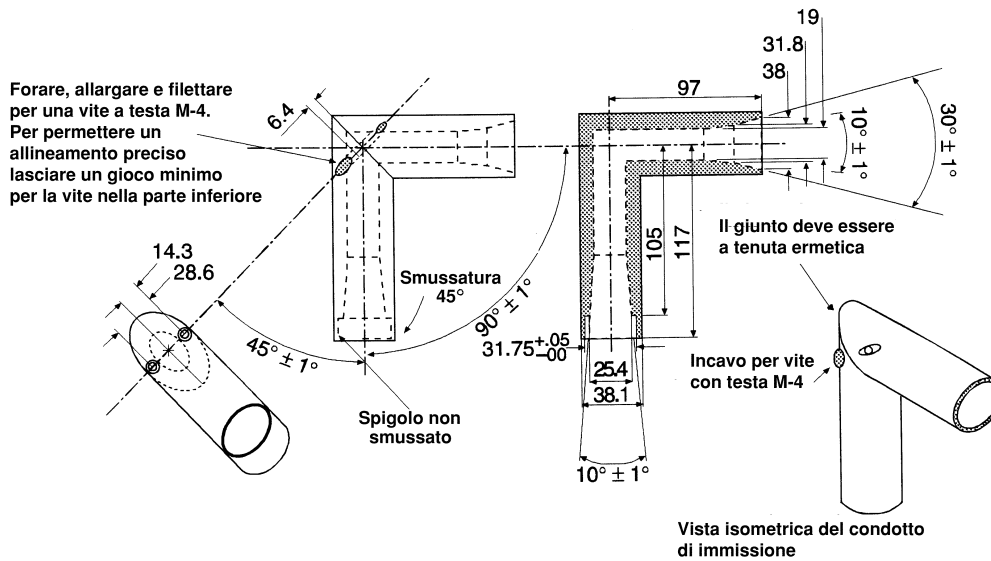


Figura 2.9.18.-6. *Apparecchio C: dettagli dello stadio di filtrazione (stadio 5).*

*I numeri si riferiscono alle dimensioni (Ø - diametro).
Le lettere maiuscole si riferiscono alla Tabella 2.9.18.-2.
Dimensioni in millimetri (se non diversamente indicato)*



Nota

- (1) Il materiale può essere alluminio, acciaio inossidabile o altro materiale adatto.
- (2) Lavorare partendo da una barra cilindrica di 38 mm.
- (3) Praticare un foro da 19 mm attraverso la barra.
- (4) Tagliare il tubo a 45° come mostrato.
- (5) Le superfici interne, cilindriche e coniche, devono essere lisce - rugosità Ra circa 0,4 µm.
- (6) Fresare le superfici di giunzione delle due parti del tubo per ottenere una tenuta ermetica a tenuta di liquido.
- (7) Utilizzare una adeguata apparecchiatura di sostegno per allineare il foro interno da 19 mm per forare e filettare i fori per vite M4 × 0,7. Praticamente non ci deve essere imperfetta centratura tra i fori interni del giunto ad angolo retto.

Figura 2.9.18.-7. Condotto di immissione
Dimensioni in millimetri salvo diversa indicazione

Procedimento per inalatori pressurizzati

Introdurre, in ciascuno degli stadi da 1 a 4, 20 ml di un solvente capace di disciogliere la sostanza attiva e ricollocare i tappi. Inclinare l'apparecchio per bagnare i tappi neutralizzando così la carica elettrostatica. Nello stadio 5 porre un filtro adatto, capace di raccogliere quantitativamente la sostanza attiva e assemblare l'apparecchio. Porre, alla fine del condotto di immissione, un appropriato adattatore del boccaglio in modo che la parte finale del boccaglio dell'attuatore, se inserito, si allinei lungo l'asse orizzontale del condotto di immissione e l'inalatore sia posizionato nello stesso orientamento previsto per l'uso. Collegare una adatta pompa da vuoto all'uscita dell'apparecchio e regolare il flusso di aria attraverso l'apparecchio, misurato all'entrata del condotto di immissione, a 30 litri al minuto (± 5 per cento). Fermare la pompa. Se non diversamente prescritto nelle istruzioni per il paziente, agitare l'inalatore per 5 s e scaricare una dose a perdere. Mettere in funzione la pompa, collocare l'estremità del boccaglio dell'attuatore nell'adattatore e scaricare l'inalatore nell'apparecchio, premendo la valvola per un tempo sufficiente per assicurare lo scarico completo.

Aspettare 5 s prima di rimuovere l'inalatore dall'adattatore. Ripetere la procedura. Il numero degli scarichi dovrebbe essere minimizzato e non dovrebbe essere maggiore di dieci. Il numero degli scarichi dovrebbe essere sufficiente ad assicurare una determinazione accurata e precisa della dose particellare fine. Dopo lo scarico finale, aspettare 5 s e poi spegnere la pompa. Smontare lo stadio del filtro dell'apparecchio. Rimuovere con attenzione il filtro ed estrarre la sostanza attiva in un'aliquota del solvente. Rimuovere il condotto di immissione e l'adattatore del boccaglio dall'apparecchio ed estrarre la sostanza attiva in un'aliquota del solvente. Se necessario, sciacquare l'interno dell'ugello allo stadio 1 con il solvente lasciando che il solvente scorra nello stadio. Estrarre la sostanza attiva dalle pareti interne e dalla piastra di raccolta di ciascuno dei quattro stadi superiori dell'apparecchio nella soluzione del rispettivo stadio, mediante inclinazione e rotazione accurata dell'apparecchio, curando che non ci sia alcun trasferimento di liquido tra gli stadi.

Usando un adatto metodo di analisi, determinare la quantità di sostanza attiva contenuta in ciascuno dei volumi di solvente.

Calcolare la dose particellare fine (vedi Calcoli).

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

Tabella 2.9.18.-2. - Specifiche dei componenti per le figure 2.9.18.-4/6

Codice*	Elemento	Descrizione	Dimensioni**
A, H	Ugello	Tubo metallico avvitato alla piastra divisoria, sigillato con una guarnizione (C), a superficie interna lucidata	vedi Figura 2.9.18.-5
B, G	Piastra divisoria	Piastra metallica circolare - diametro - spessore	120 vedi Figura 2.9.18.-5
C	Guarnizione	per es. PTFE	per fissare all'ugello
D	Piastra di separazione	Disco in vetro sinterizzato con porosità 0, diametro	vedi Figura 2.9.18.-5
E	Cilindro in vetro	Tubo in vetro tagliato a superficie piana levigata - altezza, incluse le guarnizioni - diametro esterno - spessore della parete - diametro dell'apertura di campionamento (F) - tappo dell'apertura di campionamento	46 100 3,5 18 ISO 24-25
J	Struttura in metallo	Struttura circolare profilata ad L con fenditura - diametro interno - altezza - spessore della sezione orizzontale - spessore della sezione verticale	da adattare alla piastra di separazione 4 0,5 2
K	Filo metallico	Filo in acciaio che collega la struttura metallica e il manicotto (due per ciascuna struttura) - diametro	1
L	Manicotto	Manicotto metallico avvitato all'ugello - diametro interno - altezza - spessore	da adattare all'ugello 6 5
M	Guarnizione	per es. in silicone	da adattare al cilindro in vetro
N	Bullone	Bullone metallico con dado (sei coppie) - lunghezza - diametro	205 4
P	Guarnizione ad anello (O-ring)	Anello in gomma diametro × spessore	66,34 × 2,62
Q	Guarnizione ad anello (O-ring)	Anello in gomma diametro × spessore	29,1 × 1,6
R	Porta filtro	Alloggiamento in metallo con supporto e uscita	vedi Figura 2.9.18.-6
S	Supporto del filtro	Foglio metallico perforato - diametro - diametro dei fori - distanza tra i fori (centro)	65 3 4
T	Chiusure		
U	Multi-ugello	Ugello (H) che termina in un dispositivo multi-ugello	vedi dettagli nella Figura 2.9.18.-5

* Riferito alla Figura 2.9.18.-4.

** Dimensioni in millimetri con tolleranza in accordo ISO 2768-m, se non diversamente indicato.

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

Tabella 2.9.18.-3. - Dimensioni⁽¹⁾ degli ugelli e delle piastre di separazione dell'Apparecchio C

Tipo	Codice ⁽²⁾	Stadio 1	Stadio 2	Stadio 3	Stadio 4	Filtro (stadio 5)
Distanza	1	9,5 (-0,0+0,5)	5,5 (-0,0+0,5)	4,0 (-0,0+0,5)	6,0 (-0,0+0,5)	n.a.
Distanza	2	26	31	33	30,5	0
Distanza	3	8	5	5	5	5
Distanza	4	3	3	3	3	n.a.
Distanza	5	0	3	3	3	3
Distanza	6 ⁽³⁾	20	25	25	25	25
Distanza	7	n.a.	n.a.	n.a.	8,5	n.a.
Diametro	c	25	14	8,0 ($\pm 0,1$)	21	14
Diametro	d	50	30	20	30	n.a.
Diametro	e	27,9	16,5	10,5	23,9	n.a.
Diametro	f	31,75 (-0,0+0,5)	22	14	31	22
Diametro	g	25,4	21	13	30	21
Diametro	h	n.a.	n.a.	n.a.	2,70 ($\pm 0,5$)	n.a.
Diametro	j	n.a.	n.a.	n.a.	6,3	n.a.
Diametro	k	n.a.	n.a.	n.a.	12,6	n.a.
Raggio ⁽⁴⁾	r	16	22	27	28,5	0
Raggio	s	46	46	46	46	n.a.
Raggio	t	n.a.	50	50	50	50
Angolo	w	10°	53°	53°	53°	53°
Angolo	u	n.a.	n.a.	n.a.	45°	n.a.
Angolo	v	n.a.	n.a.	n.a.	60°	n.a.

⁽¹⁾ Dimensioni in millimetri con tolleranze secondo la ISO 2768-m, se non diversamente indicato

⁽²⁾ Riferito alla Figura 2.9.18.-5

⁽³⁾ Guarnizione compresa

⁽⁴⁾ Riferito all'asse centrale dello stadio considerato

n.a. = non applicabile

Procedimento per inalatori di polvere.

Porre, nello stadio 5, un adatto filtro a bassa resistenza capace di raccogliere quantitativamente la sostanza attiva e assemblare l'apparecchio. Collegare l'apparecchio ad un sistema di flusso secondo lo schema della Figura 2.9.18.-8 ed alle indicazioni della Tabella 2.9.18.-4. Se non diversamente indicato, condurre il saggio alla velocità Q_{out} usata nel saggio per l'Uniformità della dose rilasciata, estraendo 4 litri di aria dal boccaglio dell'inalatore e attraverso l'apparecchio. Collegare un misuratore di flusso al condotto di immissione. Utilizzare un misuratore di flusso tarato per il flusso volumetrico che lascia il misuratore o calcolare il flusso che lascia il misuratore (Q_{out}) utilizzando la legge dei gas ideali. Per un misuratore tarato per il flusso in entrata (Q_{in}) utilizzare la seguente espressione:

$$Q_{out} = \frac{Q_{in} \times P_0}{P_0 - \Delta P}$$

P_0 = pressione atmosferica

ΔP = caduta di pressione sul misuratore.

Regolare la valvola di controllo del flusso per raggiungere un flusso costante attraverso il sistema alla velocità richiesta Q_{out} (± 5 per cento). Fermare la pompa. Assicurare che il flusso critico si instauri nella valvola di controllo di flusso mediante la procedura seguente. Con l'inalatore in luogo ed alla velocità di flusso stabilita per il saggio, misurare la pressione assoluta su entrambi i lati della valvola di controllo (letture della pressione ai punti P2 e P3 nella Figura 2.9.18.-8). Un rapporto P3/P2 inferiore o uguale a 0,5, indica che il flusso è critico. Se non si raggiunge un flusso critico, utilizzare una pompa a maggior potenza e misurare di nuovo la velocità di flusso del saggio.

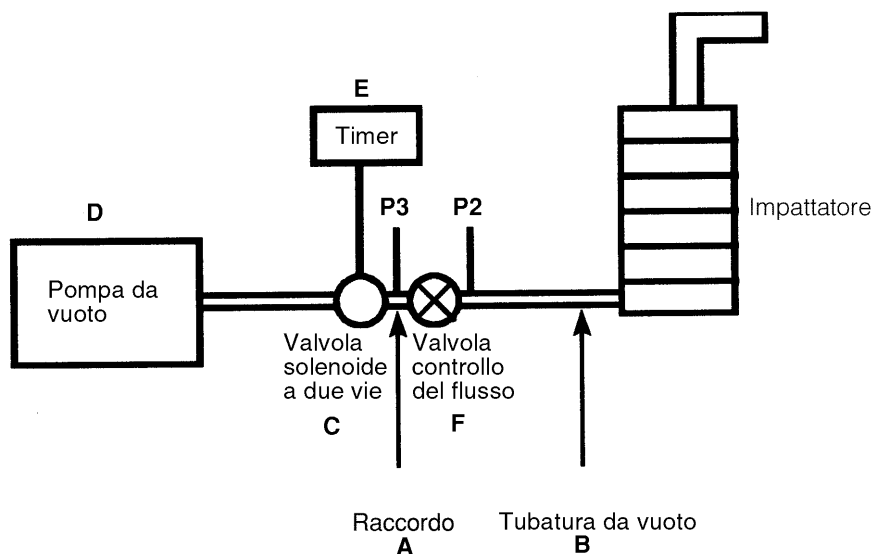


Figura 2.9.18.-8. Condizioni sperimentali per saggiare le polveri per inalazione

Tabella 2.9.18.-4. Specifiche dei componenti per la Figura 2.9.18.-8

Codice	Dati	Descrizione
A	Raccordo	\varnothing int. ≥ 8 mm, per es. giunto corto di metallo, con braccio a basso diametro, a P3.
B	Tubi da vuoto	Tubo di lunghezza appropriata con \varnothing int. ≥ 8 mm e con volume interno di 25 ± 5 ml.
C	Valvola solenoide a due vie	Orifizio di resistenza minima al flusso d'aria con diametro interno ≥ 8 mm e tempo di risposta massima di 100 millisecondi (per es. tipo 256-A08, Bürkert GmbH, D-74563 Ingelfingen) o equivalente.
D	Pompa da vuoto	La pompa deve essere capace di ottenere la velocità di flusso richiesta attraverso l'apparecchio assemblato con l'inalatore di polvere secca nell'adattatore del boccaglio (per es. tipo di prodotto 1023, 1423 o 2565 Gast Manufacturing Inc., Benton Harbor, MI 49022) o equivalente. Collegare la pompa alla valvola solenoide usando tubi da vuoto corti e/o larghi (\varnothing int. ≥ 10 mm) e raccordi per minimizzare i requisiti di capacità della pompa.
E	Timer	Timer capace di guidare la valvola solenoide per la durata richiesta (per es. tipo G814, RS Components International, Corby, NN17 9RS, UK) o equivalente.
P2, P3	Misure della pressione	Determinare la condizione di flusso all'equilibrio con un trasduttore di pressione assoluta.
F	Valvola di controllo del flusso	Valvola di regolazione regolabile con massimo $C \geq 1$, (per es. tipo 8FV12LNSS, Parker Hannifin plc., Barnstaple, EX31 1NP, UK) o equivalente.

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

In ciascuno dei quattro stadi superiori dell'apparecchio introdurre 20 ml di un solvente capace di disciogliere la sostanza attiva e rimettere i tappi. Inclinare l'apparecchio per bagnare i tappi neutralizzando così la carica elettrostatica. Porre un opportuno adattatore del bocaglio alla fine del condotto di immissione.

Preparare l'inalatore a polvere per l'uso, secondo le istruzioni per il paziente. Con la pompa in movimento e la valvola solenoide a due vie chiusa, collocare il bocaglio dell'inalatore nell'adattatore del bocaglio. Scaricare la polvere nell'apparecchio aprendo la valvola per il tempo richiesto $T (\pm 5 \text{ per cento})$. Ripetere la procedura. Il numero degli scarichi dovrebbe essere minimizzato e non dovrebbe essere maggiore di dieci. Il numero degli scarichi dovrebbe essere sufficiente per assicurare una determinazione accurata e precisa della dose particellare fine.

Smontare lo stadio del filtro dell'apparecchio. Rimuovere accuratamente il filtro ed estrarre la sostanza attiva in un'aliquota del solvente. Rimuovere il condotto di immissione e l'adattatore del bocaglio dall'apparecchio ed estrarre la sostanza attiva in un'aliquota del solvente. Se necessario, sciacquare l'interno dell'ugello allo stadio 1 con solvente, lasciando fluire il solvente nello stadio. Estrarre la sostanza attiva dalle pareti interne e dalla piastra di raccolta di ciascuno dei quattro stadi superiori dell'apparecchio nella soluzione del rispettivo stadio, inclinando e ruotando l'apparecchio, osservando che non ci sia trasferimento di liquido tra gli stadi.

Usando un metodo di analisi adatto, determinare la quantità di sostanza attiva contenuta in ciascuno dei sei volumi di solvente.

Calcolare la dose di particelle fini (vedi Calcoli).

APPARECCHIO D - IMPATTATORE A CASCATA ANDERSEN

L'impattatore ovvero il separatore a cascata Andersen 1 ACFM è formato da 8 stadi e da uno stadio finale di filtrazione. Può essere costruito in alluminio, acciaio inossidabile o altro materiale adatto. Gli stadi sono fissati insieme e sigillati con guarnizioni ad anello (O-ring). Le dimensioni critiche utilizzate dal fabbricante dell'apparecchio D sono riportate nella Tabella 2.9.18.-5. Durante l'utilizzo si possono verificare fenomeni di occlusione e di usura dei fori. Le tolleranze dimensionali in corso d'uso devono essere giustificate. Nella configurazione usata per gli inalatori pressurizzati (vedi Figura 2.9.18-9) il cono di entrata dell'impattatore è collegato ad un condotto di immissione (vedi Figura 2.9.18-7). Un appropriato adattatore del bocaglio assicura una perfetta tenuta d'aria fra l'inalatore ed il condotto di immissione e permettere di allineare la parte frontale del bocaglio dell'inalatore con quella del condotto di immissione.

Nella configurazione per gli inalatori di polvere è posto un pre-separatore sopra lo stadio superiore per racco-

gliere grande quantità di polvere non respirabile. Esso è collegato al condotto di immissione come mostrato nella Figura 2.9.18.-10. Per favorire alte velocità di flusso attraverso l'impattatore, il raccordo filettato esterno, usato per collegare l'impattatore alla pompa da vuoto, è ingrandito fino ad avere un diametro interno maggiore o uguale a 8 mm.

Tabella 2.9.18.-5. Dimensioni critiche per l'Apparecchio D

Descrizione	Numero	Dimensioni(mm)
Stadio 0 - diametro dell'ugello	96	$2,55 \pm 0,025$
Stadio 1 - diametro dell'ugello	96	$1,89 \pm 0,025$
Stadio 2 - diametro dell'ugello	400	$0,914 \pm 0,0127$
Stadio 3 - diametro dell'ugello	400	$0,711 \pm 0,0127$
Stadio 4 - diametro dell'ugello	400	$0,533 \pm 0,0127$
Stadio 5 - diametro dell'ugello	400	$0,343 \pm 0,0127$
Stadio 6 - diametro dell'ugello	400	$0,254 \pm 0,0127$
Stadio 7 - diametro dell'ugello	201	$0,254 \pm 0,0127$

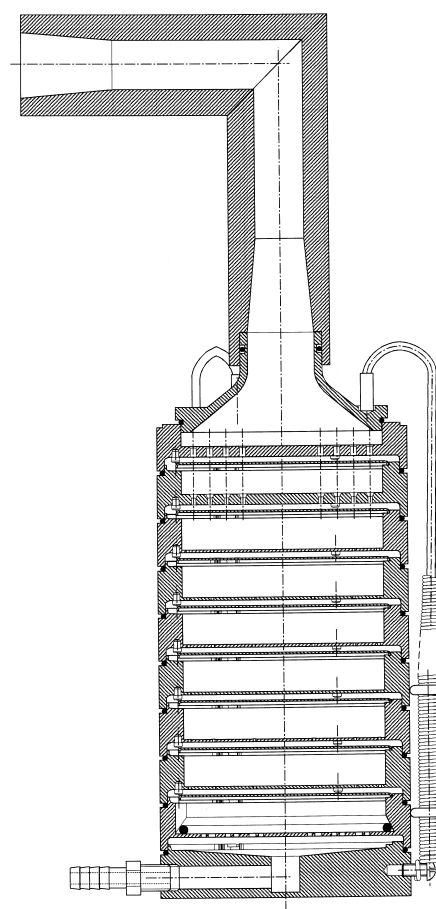


Figura 2.9.18.-9. Apparecchio D: impattatore a cascata "Andersen" utilizzato per gli inalatori pressurizzati

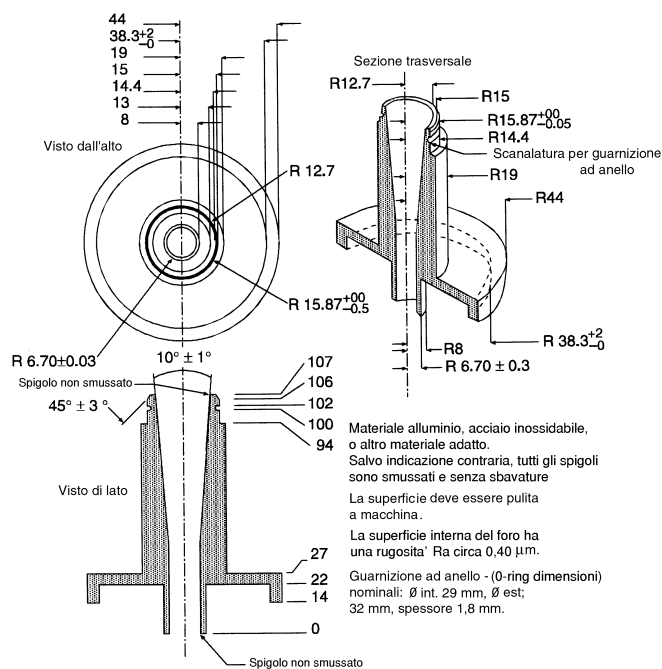


Figura 2.9.18.-10. Collegamento del condotto di immissione al pre-separatore dell'impattatore a cascata Andersen

Dimensioni in millimetri, salvo diversa indicazione

Procedimento per inalatori pressurizzati.

Porre sull'apparecchio un adatto filtro, assemblare l'impattatore Andersen e verificare che il sistema sia a tenuta d'aria. A questo riguardo seguire le istruzioni del fabbricante. Porre un opportuno adattatore del bocchaglio all'estremità del condotto di immissione in modo che la fine del bocchaglio dell'erogatore, se inserito, si allinei lungo l'asse orizzontale del condotto di immissione e l'unità dell'inalatore sia posizionata nello stesso orientamento previsto per l'uso. Collegare, all'uscita dell'apparecchio, una pompa adatta e regolare il flusso d'aria attraverso l'apparecchio, misurato all'entrata del condotto di immissione, a 28,3 litri al minuto (± 5 per cento). Fermare la pompa.

Se non diversamente prescritto nelle istruzioni al paziente, agitare l'inalatore per 5 s ed erogare una dose a perdere. Accendere la pompa, collocare l'estremità del bocchaglio dell'erogatore nell'adattatore e scaricare l'inalatore, capovolto, nell'apparecchio premendo la valvola per un tempo sufficiente ad assicurare l'erogazione completa. Aspettare 5 s prima di separare l'inalatore dall'erogatore. Ripetere la procedura. Il numero di erogazioni deve essere minimizzato e non dovrebbe essere maggiore di dieci. Il numero di erogazioni dovrebbe essere sufficiente per assicurare una determi-

nazione accurata e precisa della dose particellare fine. Dopo l'ultima erogazione, aspettare per 5 s e poi fermare la pompa.

Smontare l'apparecchio. Rimuovere con attenzione il filtro ed estrarre la sostanza attiva in un'aliquota del solvente. Rimuovere il condotto di immissione e l'adattatore del bocchaglio dall'apparecchio ed estrarre la sostanza attiva in un'aliquota del solvente. Estrarre la sostanza attiva dalle pareti interne e dalla piastra di raccolta di ciascuno degli stadi dell'apparecchio in aliquote del solvente.

Usando un metodo di analisi adatto, determinare la quantità di sostanza attiva contenuta in ciascuna delle aliquote di solvente.

Calcolare la dose particellare fine (vedi Calcoli).

Procedimento per inalatori di polveri.

I diametri di taglio (*cut-off*) di ogni stadio di questo apparecchio, per velocità diverse da 28,3 litri al minuto, non sono ancora ben definiti. Gli utilizzatori, quando operano a velocità diverse da 28,3 litri al minuto, devono giustificare e convalidare l'impiego dell'impattatore nelle condizioni prescelte.

Installare sull'apparecchio un filtro adatto, assemblare l'impattatore con un pre-separatore ed assicurare che il sistema sia a tenuta d'aria. In casi giustificati ed autorizzati, in funzione delle caratteristiche del prodotto, il pre-separatore può essere omissa. Ad alte velocità di flusso, in casi giustificati, anche gli stadi 6 e 7 possono essere omissi. Il pre-separatore può subire lo stesso trattamento, che favorisce la cattura delle particelle, previsto per le piastre o può contenere 10 ml di un solvente adatto. Collegare l'apparecchio ad un sistema idraulico secondo lo schema specificato nella Figura 2.9.18.-8 e nella Tabella 2.9.18.-4.

Se non diversamente indicato, condurre il saggio alla velocità di flusso, Q_{out} , usata nel saggio per l'Uniformità della dose rilasciata aspirando, dal bocchaglio dell'inalatore ed attraverso l'apparecchio, 4 litri di aria.

Collegare un misuratore di flusso al condotto di immissione. Utilizzare un misuratore di flusso tarato per il flusso volumetrico che lascia il misuratore, o calcolare il flusso volumetrico che lascia il misuratore (Q_{out}) utilizzando la legge dei gas ideali. Per un misuratore tarato per il flusso volumetrico (Q_{in}) che entra nel misuratore, utilizzare la seguente equazione:

$$Q_{out} = \frac{Q_{in} \times P_0}{P_0 - \Delta P}$$

P_0 = pressione atmosferica

ΔP = caduta di pressione sul misuratore.

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

Regolare la valvola di controllo del flusso per ottenere un flusso costante attraverso il sistema alla velocità richiesta Q_{out} (± 5 per cento). Assicurare, mediante la procedura descritta per l'Apparecchiatura C, che il flusso critico si instauri nella valvola di controllo del flusso. Fermare la pompa.

Preparare l'inalatore di polvere per l'uso secondo le istruzioni per il paziente. Con la pompa in funzione e la valvola solenoide a due vie chiusa, collocare il bocchaglio dell'inalatore nell'adattatore del bocchaglio. Scaricare la polvere nell'apparecchio aprendo la valvola per il tempo richiesto T (± 5 per cento). Ripetere la sequenza di scarica. Il numero delle erogazioni dovrebbe essere minimizzato e normalmente non dovrebbe essere maggiore di dieci. Il numero delle erogazioni dovrebbe essere sufficiente per assicurare una determinazione accurata e precisa della dose particellare fine.

Smontare l'apparecchio. Rimuovere accuratamente il filtro ed estrarre la sostanza attiva in un'aliquota del solvente. Rimuovere dall'apparecchio il pre-separatore, l'apertura di immissione e l'adattatore del bocchaglio ed estrarre la sostanza attiva in un'ali-

quota del solvente. Estrarre la sostanza attiva dalle pareti interne e dalla piastra di raccolta di ciascuno degli stadi dell'apparecchio in aliquote di solvente.

Usando un adatto metodo di analisi, determinare la quantità di sostanza attiva contenuta in ciascuno dei volumi di solvente.

Calcolare la dose particellare fine (vedi Calcoli)

APPARECCHIO E

L'apparecchiatura E è un impattatore a cascata con sette stadi ed un Collettore terminale a Micro-Orifizi (CMO). In un campo di utilizzazione della velocità di flusso compresa tra 30 litri/minuto e 100 litri/minuto, i diametri di taglio (cut-off) corrispondenti ad una efficienza del 50 per cento (valore D_{50}) si ripartiscono tra $0,24 \mu\text{m}$ e $11,7 \mu\text{m}$, uniformemente distribuiti su una scala logaritmica. In questa fascia di velocità, ci sono sempre almeno 5 stadi con valori D_{50} compresi tra $0,5 \mu\text{m}$ e $6,5 \mu\text{m}$. Le curve di efficienza di raccolta per ogni stadio presentano un profilo acuto e riducono al minimo la sovrapposizione tra gli stadi.

L'apparecchio può essere costruito in alluminio, acciaio inossidabile o altro adatto materiale.

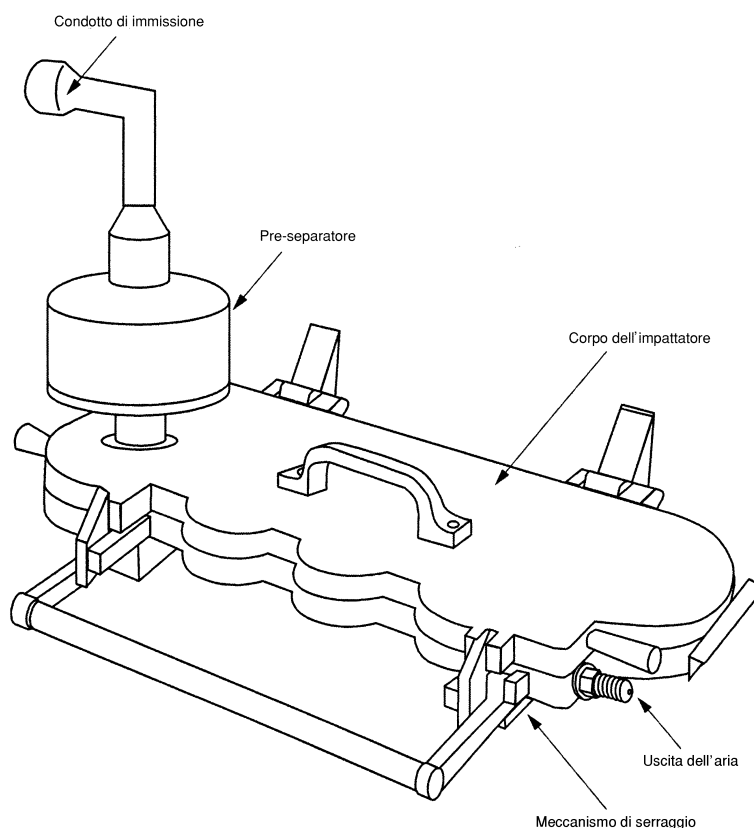


Figura 2.9.18-11. - Apparecchio E (rappresentato con il pre-separatore montato)

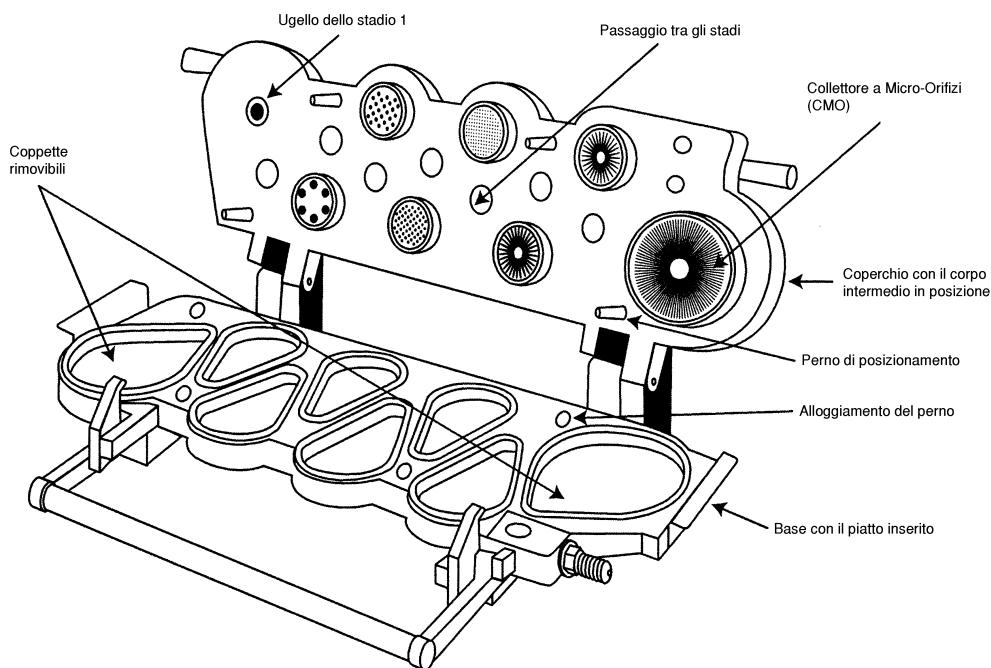


Figura 2.9.18-12. - Elementi componenti l'Apparecchio E

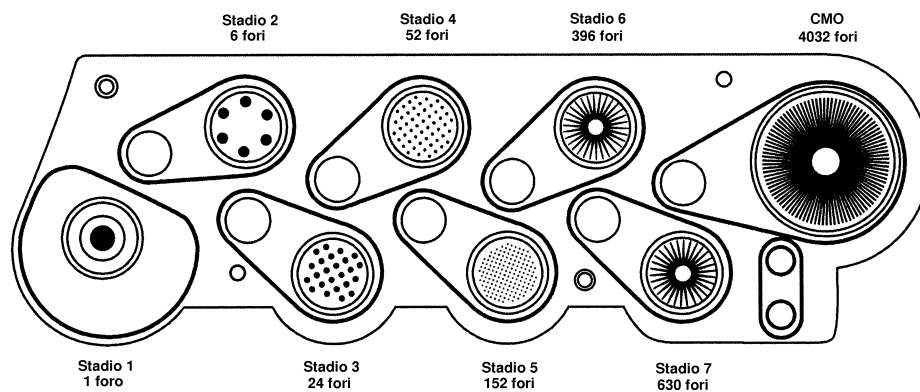


Figura 2.9.18-13. - Apparecchio E: configurazione degli ugelli

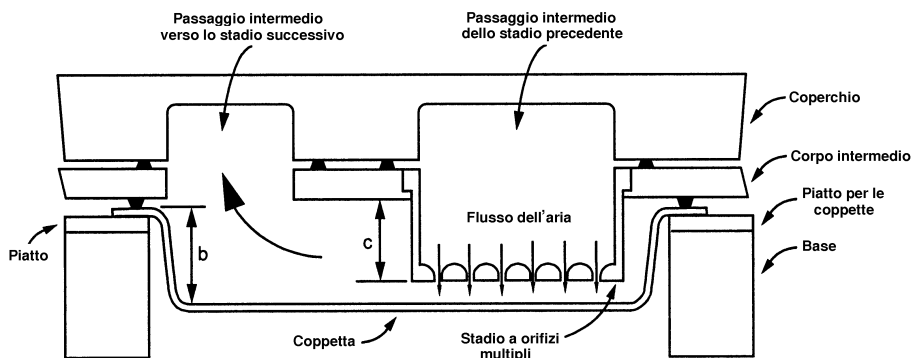


Figura 2.9.18-14. - Apparecchio E: circolazione tra gli stadi

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

Tabella 2.9.18.-6. *Dimensioni critiche per l'apparecchio E*

Descrizione	Dimensioni (mm)
Pre-separatore (dimensione a - vedi Figura 2.9.18.-15)	12,8 ± 0,05
Diametro dell'ugello - Stadio 1*	14,3 ± 0,05
Diametro dell'ugello - Stadio 2*	4,88 ± 0,04
Diametro dell'ugello - Stadio 3*	2,185 ± 0,02
Diametro dell'ugello - Stadio 4*	1,207 ± 0,01
Diametro dell'ugello - Stadio 5*	0,608 ± 0,01
Diametro dell'ugello - Stadio 6*	0,323 ± 0,01
Diametro dell'ugello - Stadio 7*	0,206 ± 0,01
CMO*	circa 0,070
Profondità della coppetta (dimensione b - vedi Figura 2.9.18.-14)	14,625 ± 0,10
Rugosità della superficie della coppetta (Ra)	0,5 – 2 µm
Dimensione c allo Stadio 1**	0 ± 1,18
Dimensione c allo Stadio 2**	5,236 ± 0,736
Dimensione c allo Stadio 3**	8,445 ± 0,410
Dimensione c allo Stadio 4**	11,379 ± 0,237
Dimensione c allo Stadio 5**	13,176 ± 0,341
Dimensione c allo Stadio 6**	13,999 ± 0,071
Dimensione c allo Stadio 7**	14,000 ± 0,071
Dimensione c al livello del CMO**	da 14,429 a 14,571
* Vedi Figura 2.9.18.-13	
** Vedi Figura 2.9.18.-14	

L'apparecchio funziona con delle coppette di impatto rimovibili e poste tutte su un unico piano (Figure 2.9.18.-11/14). L'impattatore è formato da tre parti principali; la base, che porta gli alloggiamenti per le coppette, un corpo intermedio, che garantisce la chiusura ermetica e porta gli ugelli ed un coperchio, che contiene i passaggi tra gli stadi (Figure 2.9.18.-11/12). Ad ogni stadio, tranne il primo, si utilizzano ugelli ad orifizi multipli (Figura 2.9.18.-13). La circolazione dell'aria attraverso l'impattatore avviene secondo un percorso a dente di sega.

Le dimensioni critiche sono riportate nella Tabella 2.9.18.-6.

Durante il normale funzionamento il corpo intermedio ed il coperchio sono solidali e formano un unico complesso. Le coppette di impatto sono accessibili quando, al termine del saggio, l'apparecchio viene aperto. Esse sono alloggiare in un piatto di supporto cosicché è possibile prelevarle tutte contemporaneamente, estraendo il piatto.

Un condotto di immissione avente le dimensioni interne (adeguate al percorso dell'aria) indicate in Figura 2.9.18.-7, viene collegato all'entrata dell'impattatore. Quando richiesto, soprattutto per gli inalatori a polvere, può essere aggiunto un pre-separatore, che viene posto tra il condotto di immissione e l'impattatore. Per garantire una connessione a tenuta d'aria tra l'inalatore ed il condotto di immissione si impiega un appropriato adattatore del boccaglio.

L'apparecchio E è dotato di un Collettore terminale a Micro-Orifizi (CMO) che permette, per la maggior parte delle formulazioni, di evitare l'impiego di un filtro terminale (dopo convalida del procedimento). Il CMO è un piatto di impatto con, nominalmente, 4032 fori aventi, ognuno, un diametro di, approssimativamente, 70 µm. La maggior parte delle particelle non catturate sullo stadio 7 dell'impattatore saranno catturate sulla superficie della coppetta posta sotto il CMO. Nel caso in cui l'impattatore funzioni a 60 litri/minuto, il CMO permette di raccogliere l'80 per cento delle particelle da 0,14 µm. Per le formulazioni con una frazione significativa di particelle non catturate dal CMO, è disponibile un filtro opzionale che può sostituire il CMO o essere posto a valle del CMO (è adatto un filtro in fibra di vetro).

Procedimento per inalatori pressurizzati

Installare le coppette nei rispettivi alloggiamenti del piatto di supporto. Posizionare il piatto nella base e bloccare il coperchio (con il corpo intermedio al suo posto), azionare la maniglia per bloccare le parti dell'impattatore cosicché l'apparecchio sia a tenuta d'aria.

Collegare all'entrata dell'impattatore un condotto di immissione avente le dimensioni interne indicate in Figura 2.9.18.-7. All'altra estremità del condotto di immissione posizionare un appropriato adattatore del boccaglio in modo che la parte finale del boccaglio dell'attuatore, una volta inserita, si allinei lungo l'asse orizzontale del condotto di immissione. La faccia anteriore del boccaglio dell'inalatore deve essere a filo con quella del condotto di immissione. Quando l'inalatore è collegato all'adattatore del boccaglio deve essere orientato come è previsto per l'uso. Collegare, all'uscita dell'apparecchio, una adatta pompa e regolare il flusso dell'aria attraverso l'apparecchio, misurato all'entrata del condotto di immissione, a 30 litri/minuto (± 5 per cento). Fermare la pompa.

Se non diversamente prescritto nelle istruzioni per il paziente, agitare l'inalatore per 5 s e scaricare una dose a perdere. Avviare la pompa, preparare l'inalatore per

l'uso come indicato nelle istruzioni per il paziente, collocare l'estremità del boccaglio dell'attuatore nell'adattatore e scaricare l'inalatore nell'apparecchio premendo la valvola per un tempo sufficiente per assicurare una scarica completa. Aspettare 5 s prima di rimuovere l'inalatore dall'adattatore. Ripetere la procedura. Il numero di scariche dovrebbe essere minimizzato e, generalmente, non dovrebbe essere maggiore di dieci. Il numero di scariche è sufficiente per garantire una determinazione accurata e precisa della dose particellare fine. Dopo la scarica finale, aspettare 5 s e poi spegnere la pompa.

Smontare l'apparecchio ed operare come di seguito indicato per recuperare la sostanza attiva: rimuovere dall'apparecchio il condotto di immissione e l'adattatore del boccaglio e recuperare, in una aliquota di sol-

vente, la sostanza attiva depositatasi. Aprire l'impattatore sbloccando la maniglia e sollevando il coperchio. Rimuovere il piatto di supporto con le coppette e recuperare la sostanza attiva contenuta in ogni coppetta con aliquote di solvente.

Utilizzando un adatto metodo di analisi, determinare la quantità di sostanza attiva contenuta in ognuna delle aliquote di solvente.

Calcolare la dose particellare fine (vedi Calcoli)

Procedimento per inalatori di polvere

Assemblare l'apparecchio con il pre-separatore (Figura 2.9.18.-15). In certi casi giustificati, in funzione delle caratteristiche del prodotto, il pre-separatore può essere omesso.

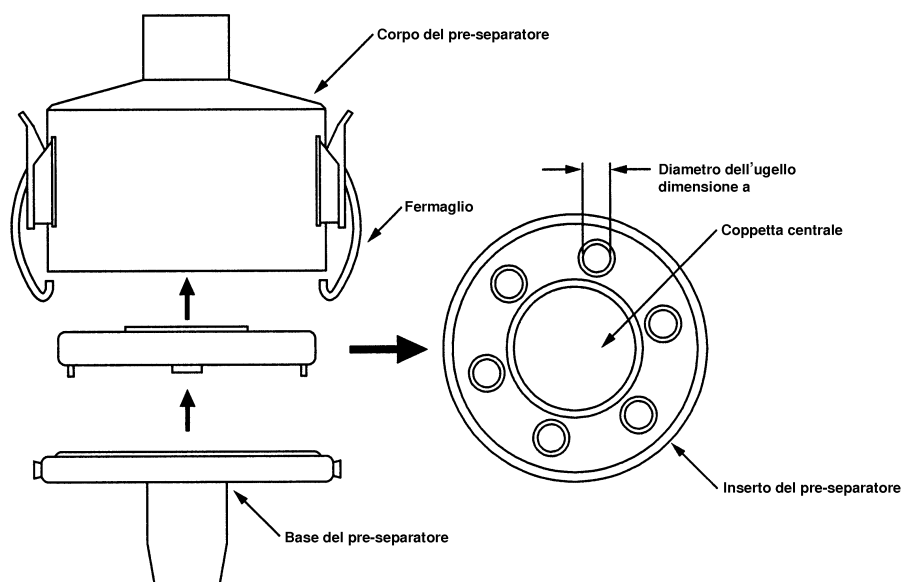


Figura 2.9.18-15. - *Apparecchio E: configurazione del pre-separatore*

Installare le coppette nei rispettivi alloggiamenti del piatto di supporto. Posizionare il piatto nella base e bloccare il coperchio (con il corpo intermedio al suo posto), azionare la maniglia per bloccare le parti dell'impattatore cosicché l'apparecchio sia a tenuta d'aria.

Quando viene utilizzato, il pre-separatore deve essere assemblato come segue: porre l'inserto sulla base del pre-separatore. Installare la base del pre-separatore sull'entrata dell'impattatore quindi mettere 15 ml del solvente utilizzato per l'estrazione della sostanza attiva

nella coppetta centrale dell'inserto. Posizionare il corpo del pre-separatore su queste parti assemblate e bloccare i due fermagli.

Collegare, all'entrata dell'impattatore, un condotto di immissione avente le dimensioni interne indicate in Figura 2.9.18.-7. All'altra estremità del condotto di immissione posizionare un appropriato adattatore del boccaglio in modo che la parte finale del boccaglio dell'inalatore, una volta inserita, si allinei lungo l'asse orizzontale del condotto di immissione. La faccia anteriore del boccaglio dell'inalatore deve essere a filo con quella del condotto di immissione. Quando

l'inalatore è collegato all'adattatore del boccaglio deve essere orientato come è previsto per l'uso. Collegare l'apparecchio ad un sistema di flusso secondo lo schema riportato nella Figura 2.9.18.-8 e nella Tabella 2.9.18.-4.

Se non diversamente indicato, condurre il saggio alla velocità di flusso, Q_{out} , usata nel saggio per l'Uniformità della dose rilasciata, aspirando, dal boccaglio dell'inalatore ed attraverso l'apparecchio, 4 litri di aria.

Collegare un misuratore di flusso al condotto di immissione. Utilizzare un misuratore di flusso tarato per il flusso volumetrico che lascia il misuratore, o calcolare il flusso volumetrico che lascia il misuratore (Q_{out}) utilizzando la legge dei gas ideali. Per un misuratore tarato per il flusso volumetrico (Q_{in}) che entra nel misuratore, utilizzare la seguente equazione:

$$Q_{out} = \frac{Q_{in} \times P_0}{P_0 - \Delta P}$$

P_0 = pressione atmosferica

ΔP = caduta di pressione nel misuratore.

Regolare la valvola di controllo del flusso per ottenere un flusso costante attraverso il sistema alla velocità richiesta Q_{out} (± 5 per cento). Assicurare, mediante la procedura descritta per l'Apparecchio C, che il flusso critico si verifichi nella valvola di controllo del flusso. Fermare la pompa.

Preparare l'inalatore di polvere per l'uso secondo le istruzioni per il paziente. Con la pompa in funzione e la valvola solenoide a due vie chiusa, collocare il boccaglio dell'inalatore nell'adattatore del boccaglio. Scaricare la polvere nell'apparecchio aprendo la valvola per il tempo richiesto T (± 5 per cento). Ripetere la procedura. Il numero delle erogazioni dovrebbe essere minimizzato e normalmente non dovrebbe essere maggiore di dieci. Il numero delle erogazioni dovrebbe essere sufficiente per assicurare una determinazione accurata e precisa della dose particellare fine.

Smontare l'apparecchio e recuperare la sostanza attiva nel seguente modo: togliere il condotto di immissione e l'adattatore del boccaglio dal pre-separatore (se impiegato) e recuperare, in una aliquota di solvente, la sostanza attiva depositata. Rimuovere dall'impattatore il pre-separatore, se impiegato, stando attenti ad evitare di versare nell'impattatore del liquido contenuto nella coppetta. Recuperare la sostanza attiva dal pre-separatore. Aprire l'impattatore sbloccando la maniglia e sollevare il coperchio. Rimuovere il piatto di supporto delle coppette e recuperare la sostanza attiva contenuta in ogni coppetta in aliquote di solvente.

Usando un adatto metodo di analisi, determinare la quantità di sostanza attiva contenuta in ognuna delle aliquote di solvente.

Calcolare la dose particellare fine (vedi Calcoli)

CALCOLI

Dalle analisi delle soluzioni, calcolare la massa di sostanza attiva depositata su ciascuno stadio per scarica e la massa di sostanza attiva per scarica depositata nel condotto di immissione, nell'adattatore del boccaglio e, se usato, nel pre-separatore. Iniziando dal punto finale di raccolta (filtro o CMO) esporre i risultati in una tabella della massa cumulativa contro il diametro di taglio (cut-off) dei rispettivi stadi (vedi Tabelle 2.9.18.-7 per l'Apparecchio C o la Tabella 2.9.18.-8 per l'Apparecchio D, o la Tabella 2.9.18.-9 per l'Apparecchio E). Calcolare mediante interpolazione la massa di sostanza attiva inferiore a $5 \mu\text{m}$. Questa è la Dose Particellare Fine (DPF).

Se necessario e se appropriato (ad esempio in caso di distribuzione log-normale), portare in diagramma la frazione cumulativa della sostanza attiva in funzione del diametro di taglio (vedi Tabelle 2.9.18.-7/9) su carta di probabilità logaritmica, e usare questo tracciato per determinare i valori per il Diametro di Massa Mediana Aerodinamica (DMMA) e per la Deviazione Standard Geometrica (DSG), a seconda del caso. Si possono utilizzare anche appropriati metodi computazionali.

Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini

Tabella 2.9.18.-7. *Calcoli per l'Apparecchio C. Usare $q = \sqrt{(60/Q)}$, dove Q è la velocità di flusso in litri per minuto (Q_{out} per inalatori di polvere).*

Diametro di taglio (μm)	Massa di sostanza attiva depositata per erogazione	Massa cumulativa di sostanza attiva depositata per erogazione	Frazione cumulativa di sostanza attiva (per cento)
$d_4 = 1,7q$	massa dallo stadio 5, m_5^*	$c_4 = m_5$	$f_4 = (c_4/c) \cdot 100$
$d_3 = 3,1q$	massa dallo stadio 4, m_4	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \cdot 100$
$d_2 = 6,8q$	massa dallo stadio 3, m_3	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \cdot 100$
	massa dallo stadio 2, m_2	$c = c_2 + m_2$	100

*stadio 5 è lo stadio del filtro

Tabella 2.9.18.-8. *Calcoli per l'Apparecchio D quando è usato a 28,3 litri al minuto*

Diametro di taglio (μm)	Massa di sostanza attiva depositata per erogazione	Massa cumulativa di sostanza attiva depositata per erogazione	Frazione cumulativa di sostanza attiva (per cento)
$d_7 = 0,4$	massa dallo stadio 8, m_8	$c_7 = m_8$	$f_7 = (c_7/c) \cdot 100$
$d_6 = 0,7$	massa dallo stadio 7, m_7	$c_6 = c_7 + m_7$	$f_6 = (c_6/c) \cdot 100$
$d_5 = 1,1$	massa dallo stadio 6, m_6	$c_5 = c_6 + m_6$	$f_5 = (c_5/c) \cdot 100$
$d_4 = 2,1$	massa dallo stadio 5, m_5	$c_4 = c_5 + m_5$	$f_4 = (c_4/c) \cdot 100$
$d_3 = 3,3$	massa dallo stadio 4, m_4	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \cdot 100$
$d_2 = 4,7$	massa dallo stadio 3, m_3	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \cdot 100$
$d_1 = 5,8$	massa dallo stadio 2, m_2	$c_1 = c_2 + m_2$	$f_1 = (c_1/c) \cdot 100$
$d_0 = 9,0$	massa dallo stadio 1, m_1	$c_0 = c_1 + m_1$	$f_0 = (c_0/c) \cdot 100$
	massa dallo stadio 0, m_0	$c = c_0 + m_0$	100

Tabella 2.9.18.-9. *Calcoli per l'Apparecchio E. Usare $q = (60/Q)^x$, dove Q è la velocità di flusso in litri per minuto ed x è riportato in tabella*

Diametro di taglio (μm)	x	Massa di sostanza attiva depositata per erogazione	Massa cumulativa di sostanza attiva depositata per erogazione	Frazione cumulativa di sostanza attiva (per cento)
$d_7 = 0,34 \times q$	0,67	massa dal CMO o dal filtro terminale, m_8	$c_7 = m_8$	$f_7 = (c_7/c) \times 100$
$d_6 = 0,55 \times q$	0,60	massa dallo stadio 7, m_7	$c_6 = c_7 + m_7$	$f_6 = (c_6/c) \times 100$
$d_5 = 0,94 \times q$	0,53	massa dallo stadio 6, m_6	$c_5 = c_6 + m_6$	$f_5 = (c_5/c) \times 100$
$d_4 = 1,66 \times q$	0,47	massa dallo stadio 5, m_5	$c_4 = c_5 + m_5$	$f_4 = (c_4/c) \times 100$
$d_3 = 2,82 \times q$	0,50	massa dallo stadio 4, m_4	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \times 100$
$d_2 = 4,46 \times q$	0,52	massa dallo stadio 3, m_3	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \times 100$
$d_1 = 8,06 \times q$	0,54	massa dallo stadio 2, m_2	$c_1 = c_2 + m_2$	$f_1 = (c_1/c) \times 100$
		massa dallo stadio 1, m_1	$c = c_1 + m_1$	100

2.9.19. CONTAMINAZIONE PARTICELLARE: PARTICELLE NON VISIBILI

La contaminazione particellare delle preparazioni iniettabili e delle infusioni endovenose è costituita da particelle estranee, non disciolte e mobili, diverse dalle bolle di gas, involontariamente presenti nelle soluzioni.

Per la determinazione della contaminazione particellare vengono qui di seguito specificati due metodi, il Metodo 1 (*Saggio della conta particellare per intercettazione di un raggio luminoso*) e il Metodo 2 (*Saggio della conta particellare al microscopio*). Quando si esaminano preparazioni iniettabili ed infusioni endovenose per la ricerca di particelle non visibili è preferibile applicare il Metodo 1. Tuttavia può essere necessario saggiare alcune preparazioni con la conta delle particelle per intercettazione di un raggio luminoso e poi con la conta delle particelle al microscopio per arrivare alla conclusione di conformità alle specifiche.

Non tutte le preparazioni parenterali possono essere saggiate per la contaminazione da particelle non visibili con uno o entrambi questi metodi. Quando il Metodo 1 non è applicabile, per esempio nel caso di preparazioni che hanno trasparenza ridotta o viscosità elevata, il saggio si effettua con il Metodo 2. Sono esempi le emulsioni, le preparazioni colloidali e liposomiali. Similmente, le preparazioni che danno origine a bolle d'aria o di gas quando vengono trasferite nel sensore possono richiedere il saggio della conta delle particelle al microscopio. Se la viscosità della preparazione da saggiare è così elevata da precludere il suo esame con entrambi i metodi, si può fare una diluizione quantitativa con un adatto diluente per diminuirne la viscosità quanto necessario per permettere di effettuare l'analisi.

I risultati ottenuti nell'esame per la contaminazione particellare di una singola unità o di un gruppo di unità non possono essere estrapolati con certezza ad altre unità che rimangono non esaminate. Così, si devono sviluppare piani di campionamento statisticamente validi se bisogna trarre dai dati osservati conclusioni certe per caratterizzare il livello di contaminazione particellare in un grande gruppo di unità.

METODO 1. SAGGIO DELLA CONTA PARTICELLARE PER INTERCETTAZIONE DI UN RAGGIO LUMINOSO

Utilizzare un apparecchio appropriato, basato sul principio della intercettazione di un raggio luminoso, che permette la determinazione automatica della grandezza delle particelle e del loro numero in funzione della dimensione.

L'apparecchio viene tarato utilizzando idonei materiali di riferimento certificati costituiti da dispersioni di particelle sferiche di grandezza nota, compresa tra 10 µm e 25 µm. Effettuare una dispersione di tali particelle di riferimento in *acqua esente da particelle R* evitando che si formino aggregati di particelle durante la dispersione.

Precauzioni generali

Effettuare il saggio in condizioni da limitare la contaminazione particellare, preferibilmente in una cappa a flusso laminare.

Lavare molto accuratamente la vetreria utilizzata e l'apparecchiatura usata per la filtrazione, eccetto le membrane filtranti, con una soluzione detergente calda e risciacquare abbondantemente con acqua per eliminare ogni traccia di detergente. Immediatamente prima dell'uso, risciacquare l'apparecchio dall'alto al basso, all'esterno e successivamente all'interno, con *acqua esente da particelle R*.

Evitare di introdurre bolle d'aria nella preparazione in esame, specialmente durante il trasferimento di frazioni della preparazione nel recipiente in cui viene effettuata la determinazione.

Al fine di verificare che l'ambiente sia adatto per il saggio, che i recipienti di vetro siano convenientemente puliti e che l'acqua da utilizzare sia esente da particelle, viene effettuato il saggio seguente: determinare la contaminazione particellare su cinque campioni di *acqua esente da particelle R*, ciascuno da 5 ml, seguendo il procedimento di seguito descritto. Se il numero di particelle di dimensione uguale o superiore a 10 µm è maggiore di 25 per i 25 ml riuniti, le precauzioni prese per il saggio non sono sufficienti. Le fasi preparatorie devono essere ripetute fino a che l'ambiente, la vetreria e l'acqua siano idonei al saggio.

Metodo

Mescolare il contenuto del recipiente capovolgendo lentamente lo stesso per 20 volte successive. Se necessario, rimuovere cautamente la chiusura ermetica. Lavare le superfici esterne dell'apertura del recipiente utiliz-

zando un getto di *acqua esente da particelle R* e rimuovere la chiusura, avendo cura di evitare la contaminazione del contenuto. Eliminare le bolle di gas in modo appropriato, come lasciando a riposo la soluzione per 2 min o per sonicazione.

Per parenterali di grande volume, si esaminano singole unità. Per parenterali di piccolo volume, inferiore a 25 ml, si uniscono i contenuti di 10 o più unità in un contenitore pulito per ottenere un volume di non meno di 25 ml; se giustificato ed autorizzato, la soluzione in esame può essere preparata mescolando i contenuti di un appropriato numero di fiale e diluendo a 25 ml con *acqua esente da particelle R* o con un adatto solvente senza contaminazione particellare quando l'*acqua esente da particelle R* non sia disponibile. Parenterali di piccolo volume con un volume di 25 ml o più possono essere esaminati singolarmente.

Le polveri per uso parenterale vengono ricostituite con *acqua esente da particelle R* o con adatto solvente senza contaminazione particellare quando non sia disponibile *acqua esente da particelle R*.

Il numero di campioni in esame deve essere sufficiente a dare una valutazione statisticamente valida. Per parenterali di grande volume o per parenterali di piccolo volume che abbiano un volume di 25 ml o più, si possono esaminare meno di 10 unità, in base ad un appropriato programma di campionamento.

Prelevare quattro porzioni, ciascuna non inferiore a 5 ml, e contare il numero di particelle con grandezza uguale o superiore a 10 μm e a 25 μm . Calcolare il numero medio di particelle nella preparazione in esame, non tenendo conto del risultato relativo alla prima porzione.

Valutazione

Per preparazioni fornite in contenitori con un volume nominale maggiore di 100 ml, applicare i criteri del saggio 1.A.

Per preparazioni fornite in contenitori con un volume nominale inferiore a 100 ml, applicare i criteri del saggio 1.B.

Per preparazioni fornite in contenitori con un volume nominale di 100 ml, applicare i criteri del saggio 1.B.

Se il numero medio di particelle supera i limiti, esaminare la preparazione con il Saggio della conta particellare al microscopio.

Saggio 1.A.

Soluzioni per infusione endovenosa o soluzioni per preparazioni iniettabili fornite in contenitori con un contenuto nominale maggiore di 100 ml.

La preparazione soddisfa al saggio se il numero medio delle particelle presenti nelle unità in esame non supera, per millilitro, 25 di dimensione uguale o maggiore di 10 μm e 3 di dimensione uguale o maggiore di 25 μm .

Saggio 1.B.

Soluzioni per infusione endovenosa o soluzioni per preparazioni iniettabili fornite in contenitori con un contenuto nominale inferiore a 100 ml.

La preparazione soddisfa al saggio se il numero medio delle particelle presenti nelle unità in esame non supera, per contenitore, 6000 di dimensione uguale o maggiore di 10 μm e 600 di dimensione uguale o maggiore di 25 μm .

METODO 2. SAGGIO DELLA CONTA PARTICELLARE AL MICROSCOPIO

Utilizzare un adatto microscopio binoculare, un sistema filtrante per trattenere le particelle contaminanti e una membrana filtrante per l'esame.

Il microscopio è fornito di un micrometro oculare tarato con un obiettivo micrometrico, un portaoggetti meccanico in grado di tenere ferma e di muovere trasversalmente l'intera area di filtrazione della membrana filtrante, 2 fonti di luce adatte a fornire una illuminazione episcopica oltre all'illuminazione obliqua, regolato a 100 ± 10 ingrandimenti.

Il micrometro oculare è un reticolo circolare (vedi Figura 2.9.19. 1) e consiste di un largo cerchio diviso da croci di collimazione in quadranti, di cerchi trasparenti e neri del diametro di 10 μm e di 25 μm a 100 ingrandimenti e di una scala lineare graduata in incrementi di 10 μm . Viene tarato per mezzo di un micrometro portaoggetti certificato da una istituzione o nazionale o internazionale standard. E' ritenuto accettabile un errore relativo della scala lineare del reticolo entro ± 2 per cento. Il cerchio largo è indicato come il Campo Reticolare Visivo (CRV).

Contaminazione particellare: particelle non visibili

Sono necessarie due fonti luminose. Una è una sorgente luminosa episcopica interna al microscopio, l'altra è esterna ausiliaria che può essere messa a fuoco, regolabile a dare una illuminazione riflessa obliqua con un angolo di 10-20°.

Il sistema filtrante che trattiene la contaminazione particellare è costituito da un portafiltro fatto di vetro o altro materiale adatto ed è dotato di una presa per il vuoto e di una adatta membrana filtrante.

La membrana filtrante è di dimensione opportuna, nera o grigio scura, non reticolata o reticolata, e con dimensione nominale dei pori di 1,0 μm o più fine.

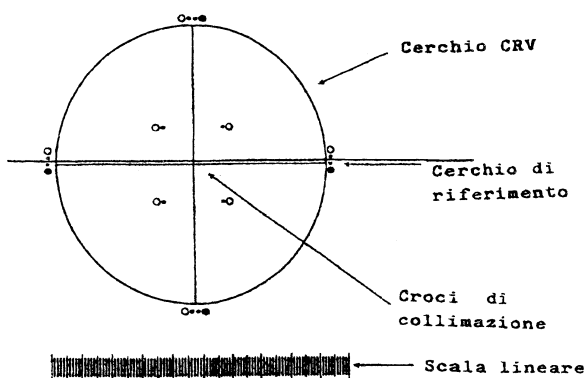


Figura 2.9.19.1.- Reticolo circolare

Precauzioni generali

Il saggio si effettua in condizioni che limitino la contaminazione particellare, preferibilmente in una cappa a flusso laminare.

Lavare molto accuratamente la vetreria utilizzata e l'apparecchiatura usata per la filtrazione, eccetto la membrana filtrante, con una soluzione detergente calda e risciacquare con abbondante acqua per eliminare ogni traccia di detergente. Immediatamente prima dell'uso, risciacquare entrambi i lati della membrana filtrante e l'apparecchio dall'alto al basso, all'esterno e poi all'interno con *acqua esente da particelle R*.

Al fine di verificare che l'ambiente sia adatto per il saggio, che la vetreria e la membrana filtrante siano convenientemente puliti e che l'acqua da utilizzare sia esente da particelle, viene effettuato il saggio seguente: determinare la contaminazione particellare di un volume di 50 ml di *acqua esente da particelle R* seguendo il procedimento descritto di

seguito. Se più di 20 particelle della dimensione uguale o maggiore di 10 μm o se più di 5 particelle della dimensione uguale o maggiore di 25 μm sono presenti entro l'area di filtrazione, le precauzioni adottate per il saggio non sono sufficienti. Le fasi preparatorie devono essere ripetute finché l'ambiente, la vetreria, la membrana filtrante e l'acqua siano idonei al saggio.

Metodo

Mescolare il contenuto del recipiente capovolgendo lentamente lo stesso per 20 volte successive. Se necessario, rimuovere cautamente la chiusura ermetica. Lavare le superfici esterne dell'apertura del recipiente utilizzando un getto di *acqua esente da particelle R* e rimuovere la chiusura, avendo cura di evitare la contaminazione del contenuto.

Per parenterali di grande volume, si esaminano singole unità. Per parenterali di piccolo volume, inferiore a 25 ml, si uniscono i contenuti di 10 o più unità in un contenitore pulito; se giustificato ed autorizzato, la soluzione in esame può essere preparata mescolando i contenuti di un appropriato numero di fiale e diluendo a 25 ml con *acqua esente da particelle R* o con un adatto solvente senza contaminazione particellare quando l'*acqua esente da particelle R* non sia disponibile. Parenterali di piccolo volume con un volume di 25 ml o più possono essere esaminati singolarmente.

Le polveri per uso parenterale vengono ricostituite con *acqua esente da particelle R* o con adatto solvente senza contaminazione particellare quando non sia disponibile *acqua esente da particelle R*.

Il numero di campioni in esame deve essere sufficiente a dare una valutazione statisticamente valida. Per parenterali di grande volume o per parenterali di piccolo volume che abbiano un volume di 25 ml o più, si possono esaminare meno di 10 unità, in base ad appropriato programma di campionamento.

Bagnare l'interno del portafiltro già provvisto della membrana filtrante con parecchi millilitri di *acqua esente da particelle R*. Trasferire all'imbuto da filtrazione il volume totale di una soluzione riunita o di una singola unità e applicare il vuoto. Se necessario aggiungere gradualmente una porzione della soluzione finché sia filtrato l'intero volume. Dopo l'ultima aggiunta di soluzione, cominciare a risciacquare le pareti interne del porta-filtro utilizzando un getto di *acqua esente da*

particelle R. Mantenere il vuoto finché la superficie della membrana filtrante è asciutta. Porre il filtro in una scatola Petri e lasciarlo asciugare all'aria con il coperchio leggermente aperto. Dopo che il filtro è seccato, porre la scatola Petri sul tavolino portaoggetti del microscopio, esaminare l'intera membrana filtrante sotto la luce riflessa dal sistema illuminante e contare il numero di particelle che sono di dimensione uguale o maggiore di 10 μm e il numero di particelle di dimensione uguale o maggiore di 25 μm . Oppure, è consentita una conta parziale sul filtro e la determinazione del totale col calcolo. Calcolare il numero medio di particelle per la preparazione da esaminare.

Il procedimento di misura delle particelle con il reticolo circolare viene realizzato trasformando mentalmente l'immagine di ciascuna particella in un cerchio e quindi confrontandola con i cerchi di riferimento del reticolo della dimensione di 10 μm e di 25 μm . Perciò le particelle non vengono mosse dal loro posto iniziale nel campo visivo del reticolo e non sono sovrapposte ai cerchi di riferimento per il confronto. Il diametro interno dei cerchi di riferimento trasparenti viene utilizzato per misurare particelle bianche o trasparenti, mentre le particelle scure sono misurate utilizzando il diametro esterno dei cerchi di riferimento neri e opachi del reticolo.

Nell'effettuare il saggio della conta particellare al microscopio non cercare di misurare o di contare materiali amorfi, semi-liquidi o in altro modo a morfologia indistinta che appaiano come una macchia o una decolorazione sulla membrana filtrante. Questi materiali presentano superficie in rilievo piccola o assente e hanno un aspetto gelatinoso o simile a una pellicola. In tali casi, l'interpretazione della enumerazione può essere agevolata esaminando un campione della soluzione con il saggio della conta per intercettazione di un raggio luminoso.

Valutazione

Per preparazioni fornite in contenitori con un volume nominale maggiore di 100 ml, applicare i criteri del saggio 2.A.

Per preparazioni fornite in contenitori con un volume nominale inferiore a 100 ml, applicare i criteri del saggio 2.B.

Per preparazioni fornite in contenitori con un volume nominale di 100 ml, applicare i criteri del saggio 2.B.

Saggio 2.A.

Soluzioni per infusione endovenosa o soluzioni per preparazioni iniettabili fornite in contenitori con un contenuto nominale maggiore di 100 ml.

La preparazione soddisfa al saggio se il numero medio delle particelle presenti nelle unità in esame non supera, per millilitro, 12 di dimensione uguale o maggiore di 10 μm e 2 di dimensione uguale o maggiore di 25 μm .

Saggio 2.B.

Soluzioni per infusione endovenosa o soluzioni per preparazioni iniettabili fornite in contenitori con un contenuto nominale inferiore a 100 ml.

La preparazione soddisfa al saggio se il numero medio delle particelle presenti nelle unità in esame non supera, per contenitore, 3000 di dimensione uguale o maggiore di 10 μm e 300 di dimensione uguale o maggiore di 25 μm .

2.9.20. CONTAMINAZIONE PARTICELLARE: PARTICELLE VISIBILI

La contaminazione particellare delle preparazioni iniettabili e delle infusioni endovenose è costituita da particelle estranee, non disciolte e mobili, diverse dalle bolle di gas, involontariamente presenti nelle soluzioni.

Questo saggio si propone di offrire un metodo semplice per la valutazione visiva della qualità delle soluzioni parenterali riguardo le particelle visibili. Possano essere usati altri metodi convalidati.

APPARECCHITURA

L'apparecchio (vedi Figura 2.9.20.-1) è costituito da un dispositivo per l'ispezione visiva che prevede:

- un pannello nero opaco di appropriata dimensione posto in posizione verticale,
- un pannello bianco non abbagliante di dimensioni appropriate posto in posizione verticale di fianco al pannello nero,

Determinazione del tempo di rammollimento di supposte lipofile

- un portalamпада orientabile provvisto di una sorgente di luce bianca schermata e di un adatto diffusore (è idoneo un portalamпада contenente due tubi fluorescenti, ciascuno da 13 W e di 525 mm di lunghezza). L'intensità dell'illuminazione nel punto di osservazione viene mantenuta tra 2000 lux e 3750 lux, sebbene valori più alti siano da preferire per i contenitori colorati di vetro e di plastica.

METODO

Rimuovere qualsiasi etichetta dal contenitore e lavare e seccare la parte esterna. Agitare o capovolgere con precauzione ciascun contenitore, evitando di introdurre bolle di aria, ed effettuare l'ispezione visiva per circa 5 s contro il pannello bianco. Ripetere il procedimento contro il pannello nero. Registrare la presenza di qualsiasi particella.

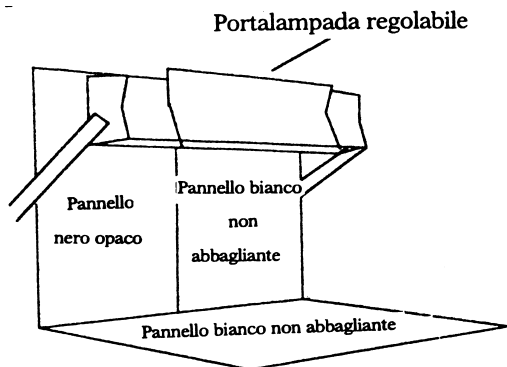


Figura 2.9.20.-1.- *Apparecchio per le particelle visibili*

2.9.22. DETERMINAZIONE DEL TEMPO DI RAMMOLLIMENTO DI SUPPOSTE LIPOFILE

Il saggio ha lo scopo di determinare, in condizioni stabilite, il tempo che passa prima che una supposta mantenuta in acqua rammollisca al punto da non offrire più a lungo resistenza quando venga applicato un peso definito.

APPARECCHIATURA A

L'apparecchio (vedi Figura 2.9.22.-1) consiste di un tubo di vetro, del diametro interno di 15,5 mm, con fondo piatto e lungo circa 140 mm. Il tubo è chiuso da un coperchio rimovibile in plastica con una apertura del diametro di 5,2 mm. L'apparecchio comprende un'asta del diametro di 5,0 mm che si allarga verso l'e-

stremità inferiore raggiungendo un diametro di 12 mm. Sulla superficie piana inferiore è fissato un ago metallico lungo 2 mm e del diametro di 1 mm.

L'asta è costituita da due parti, una inferiore di materiale plastico e una parte superiore di materiale plastico o di metallo, con un peso a disco. Le parti superiore e inferiore sono fissate insieme (versione manuale) oppure separate (versione automatizzata). Il peso dell'asta intera è di $30 \pm 0,1$ g. La parte superiore dell'asta porta un anello d'indicazione scorrevole. Quando l'asta viene introdotta nel tubo di vetro così che tocchi la base, l'anello viene fatto coincidere con il livello superiore del coperchio in plastica.

Metodo. Porre il tubo di vetro contenente 10 ml di acqua nel b.m. e regolare a $36,5 \pm 0,5$ °C. Fissare il tubo di vetro verticalmente e immergere a una profondità di almeno 7 cm sotto la superficie, ma senza toccare il fondo del b.m. Introdurre nel tubo di vetro una supposta, la punta per prima, e poi l'asta, con il coperchio di plastica libero di scorrere, finché l'ago metallico tocca l'estremità piatta della supposta. Porre il coperchio sul tubo e notare il tempo necessario perché l'asta scenda fino alla base del tubo di vetro e l'anello indicatore raggiunga il livello superiore del coperchio in plastica.

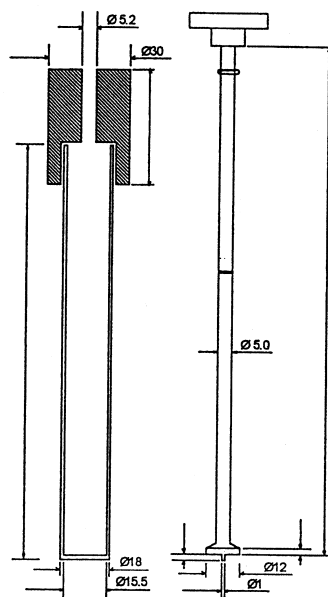


Figura 2.9.22.-1 - *Apparecchiatura A per la misura del tempo di rammollimento di supposto lipofilo*

Dimensioni in millimetri

APPARECCHIATURA B

L'apparecchio (vedi Figura 2.9.22-2) è costituito da un b.m. (B) in cui è inserito e fissato con un tappo un tubo interno (A). Il tubo interno è chiuso alla base da un tappo. L'apparecchio è dotato di un termometro. Sono disponibili due accessori:

- una bacchetta di vetro (C₁) costituita da un tubo saldato a entrambe le estremità, portante alla sua estremità inferiore un bordo caricato con pallini di piombo che ha un peso di 30 ± 0,1 g;
- un accessorio penetrante (C₂) costituito da una bacchetta (7,5 ± 0,1 g) in un tubo che porta una espansione per la supposta, entrambi di acciaio inossidabile.

Metodo. Versare 5 ml di acqua a 36,5 ± 0,5 °C nel tubo interno, introdurre una supposta con la punta in basso e su quella porre l'accessorio (C₁ o C₂). La misura del tempo comincia in questo momento. La fusione o dissoluzione si considera completa quando l'estremità inferiore col bordo della bacchetta di vetro (C₁) o di acciaio (C₂) raggiunge la parte ristretta del tubo di vetro interno.

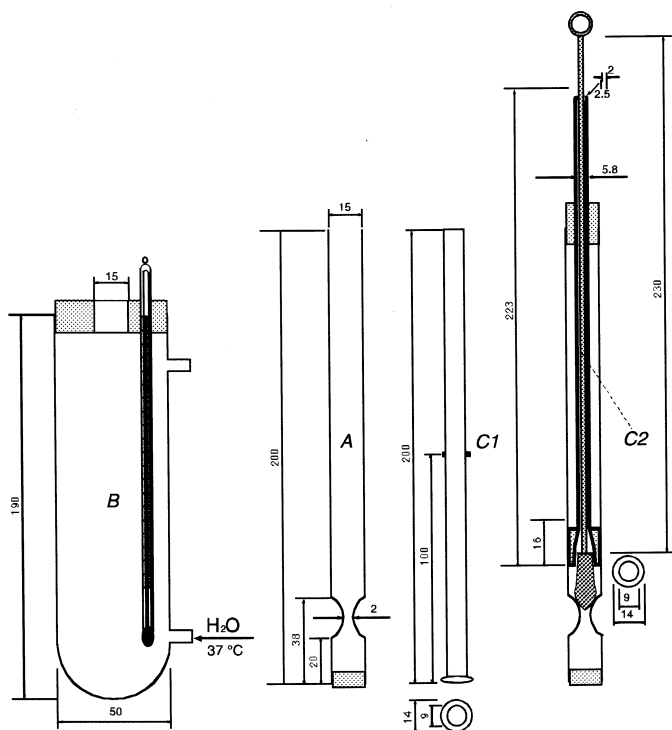


Figura 2.9.22.2. Apparecchiatura B per la misura del tempo di rammollimento di supposte lipofile. Dimensioni in millimetri.

2.9.23. DENSITÀ DEI SOLIDI MEDIANTE PICNOMETRIA A GAS

La densità mediante picnometria a gas è determinata misurando il volume occupato da una massa nota di polvere, volume che è equivalente a quello del gas spostato dalla polvere in un picnometro a spostamento di gas. Nella misura di densità mediante picnometria a gas, il volume determinato esclude il volume occupato dai fori aperti ma comprende quello occupato dai fori chiusi o non accessibili al gas.

L'elio è generalmente usato come gas per il saggio in quanto ha una grande diffusibilità nei piccoli fori aperti. Se si usano gas diversi dall'elio, si potrebbero ottenere valori diversi in quanto la penetrazione di un gas dipende sia dalla dimensione dei fori che dalla sezione trasversale delle molecole del gas stesso.

La densità misurata è la media ponderata in volume delle densità individuali delle particelle di polvere. Viene chiamata densità particellare; questa è da distinguere dalla densità vera e propria di un solido e dalla densità di "bulk" di una polvere. La densità dei solidi è espressa in grammi per centimetro cubico (g/cm³) anche se l'unità internazionale è il chilogrammo per metro cubo (1 g/cm³ = 1000 Kg/m³).

APPARECCHIATURA

L'apparecchio utilizzato (vedi Fig. 2.9.23.-1) comprende i seguenti elementi:

- una cella di saggio sigillata, con un volume, quando vuota, pari a V_c e collegata, mediante una valvola, ad una cella di espansione avente un volume V_r;
- un sistema che permette di portare la pressione interna della cella di saggio, mediante il gas di misura, ad un valore definito P indicato da un manometro;
- una sorgente che porta nel sistema il gas di misura che, salvo indicazioni contrarie, è preferibilmente elio.

La misurazione della densità mediante picnometria a gas viene fatta ad una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C e che non deve variare per più di 2 °C durante la misurazione stessa.

La taratura dell'apparecchiatura, ovvero la determinazione dei volumi V_c e V_r, viene effettuata utilizzando un adeguato standard di calibrazione il cui volume totale è conosciuto a circa 0,001 cm³. Il metodo sotto descritto è applicato in 2 tempi; prima con la cella di saggio vuota e successivamente ponendo lo standard di calibrazione nella cella di saggio. I volumi V_c e V_r vengono calcolati usando l'equazione per il volume del campione (V_s) considerando che V_s nella prima fase della misurazione è pari a zero.

METODO

I contaminanti volatili presenti nella polvere vengono eliminati mediante degassamento sotto un costante flusso di elio prima di effettuare la misurazione. Occasionalmente le polveri possono essere degassate sotto vuoto. Poiché i contaminanti volatili possono essere eliminati durante il corso della misurazione, il campione viene pesato subito dopo la misurazione picnometrica del volume.

Pesare la cella di saggio del picnometro ed annotare la massa ottenuta. Riempire la cella di saggio con una data massa di polvere della sostanza da esaminare. Montare a tenuta la cella di saggio nel picnometro. Annotare la pressione di riferimento (P_r) del sistema il cui valore è indicato dal manometro quando la valvola di comunicazione tra la cella di espansione e la cella di saggio è aperta. Chiudere la valvola per separare la cella di espansione dalla cella di saggio. Portare, mediante il gas, la pressione interna della cella di saggio ad una pressione iniziale P_i ed annotare il valore ottenuto. Aprire la valvola per ristabilire la connessione tra le 2 celle. Annotare la pressione finale P_f . Ripetere la sequenza di misurazione per lo stesso campione di polvere fino ad ottenere, per il volume V_s , due risultati consecutivi che presentano uno scarto inferiore o uguale allo 0,2 per cento. Smontare la cella di saggio e misurare la massa finale (m) della polvere, espressa in grammi. Qualora il picnometro utilizzato è diverso per modalità di impiego e per concezione da quello descritto nella figura 2.9.23.-1, seguire le istruzioni del fabbricante del picnometro.

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

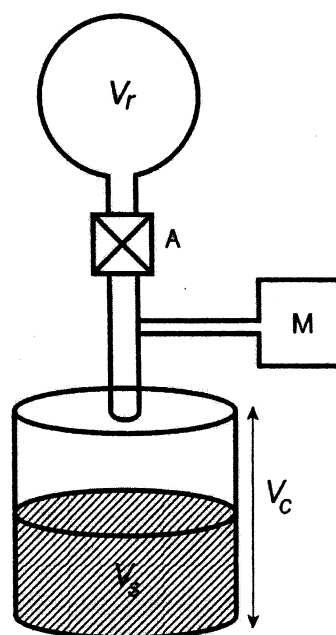
Il volume V_s del campione è dato dalla espressione seguente:

$$V_s = V_c - \frac{V_r}{\frac{P_i - P_r}{P_f - P_r} - 1}$$

La densità ρ è data dalla equazione:

$$\rho = \frac{m}{V_s}$$

Indicare insieme ai risultati il modo di condizionamento del campione. Per esempio precisare se il campione è stato esaminato come tale o dopo essere stato essiccato in specifiche condizioni come quelle descritte per il saggio "perdita all'essiccamento".



- A = valvola
 V_r = volume della cella di espansione, in cm^3 ,
 V_c = volume della cella di saggio, in cm^3 ,
 V_s = volume del campione, in cm^3 ,
M = manometro.

Fig. 2.9.23-1. Rappresentazione schematica di un picnometro a gas

2.9.25. SAGGIO DI DISSOLUZIONE PER LE GOMME DA MASTICARE MEDICATE

PRINCIPIO

Il saggio viene usato per determinare la velocità di dissoluzione delle sostanze attive contenute nelle gomme da masticare medicate.

Esso consiste nel sottoporre ad una masticazione meccanica un pezzo di gomma posto in una piccola camera concepita per simulare il processo di masticazione.

APPARECCHIATURA

L'apparecchio di masticazione (Figura 2.9.25.-1) è costituito da:

- 1 camera di masticazione,
- 1 pistone verticale,
- 2 pistoni orizzontali muniti di guarnizioni ad anello (O-rings) e guarnizioni a tenuta.

La camera di masticazione è composta da 4 elementi:

- 1 camera centrale,
- 1 imbuto (Figura 2.9.25.-2)
- 2 elementi di guida ad anello (Figura 2.9.25.-3)

L'imbuto e le guide sono montate nella camera centrale, gli O-rings sono incorporati nella scanalatura del pistone con intorno le guarnizioni a tenuta; queste assi-

curano che la camera è a prova d'acqua. I pistoni orizzontali sono introdotti nella camera di masticazione mediante gli elementi di guida.

La gomma è masticata artificialmente dai pistoni orizzontali mentre il pistone verticale assicura che la gomma rimanga nel posto giusto tra i cicli di masticazione.

La velocità dell'apparecchiatura è regolata in modo da assicurare la realizzazione di cicli costanti.

Un ciclo di masticazione è definito nel modo seguente: i pistoni orizzontali partono dalle loro posizioni estreme di apertura, si spostano fino alla loro posizione estrema di chiusura per poi tornare alla loro posizione iniziale. Nel corso di un ciclo, il pistone verticale si muove dalla sua posizione più bassa verso la sua posizione iniziale.

La corsa di ciascun pistone orizzontale è di 25,0 mm. La massima distanza tra questi 2 pistoni è di 50 mm.

La minima distanza tra i 2 pistoni orizzontali è compresa tra 0,1 mm e 1,0 mm. La corsa del pistone verticale è di 22,0 mm.

Il movimento dei pistoni orizzontali è regolato in modo tale che i 2 pistoni si trovano simultaneamente nella loro posizione estrema di chiusura. Il movimento del pistone verticale è regolato per non interferire con quello dei pistoni orizzontali.

Se necessario l'apparecchiatura può essere costruita in modo tale che, alla fine del ciclo di masticazione, i due cilindri orizzontali ruotino intorno ai loro assi in direzione opposta l'uno con l'altro in modo da ottenere la massima masticazione.

Tutte le parti dell'apparecchiatura che possono venire in contatto con la preparazione o con i mezzi di dissoluzione sono chimicamente inerti e non assorbono, reagiscono o interferiscono con il campione.

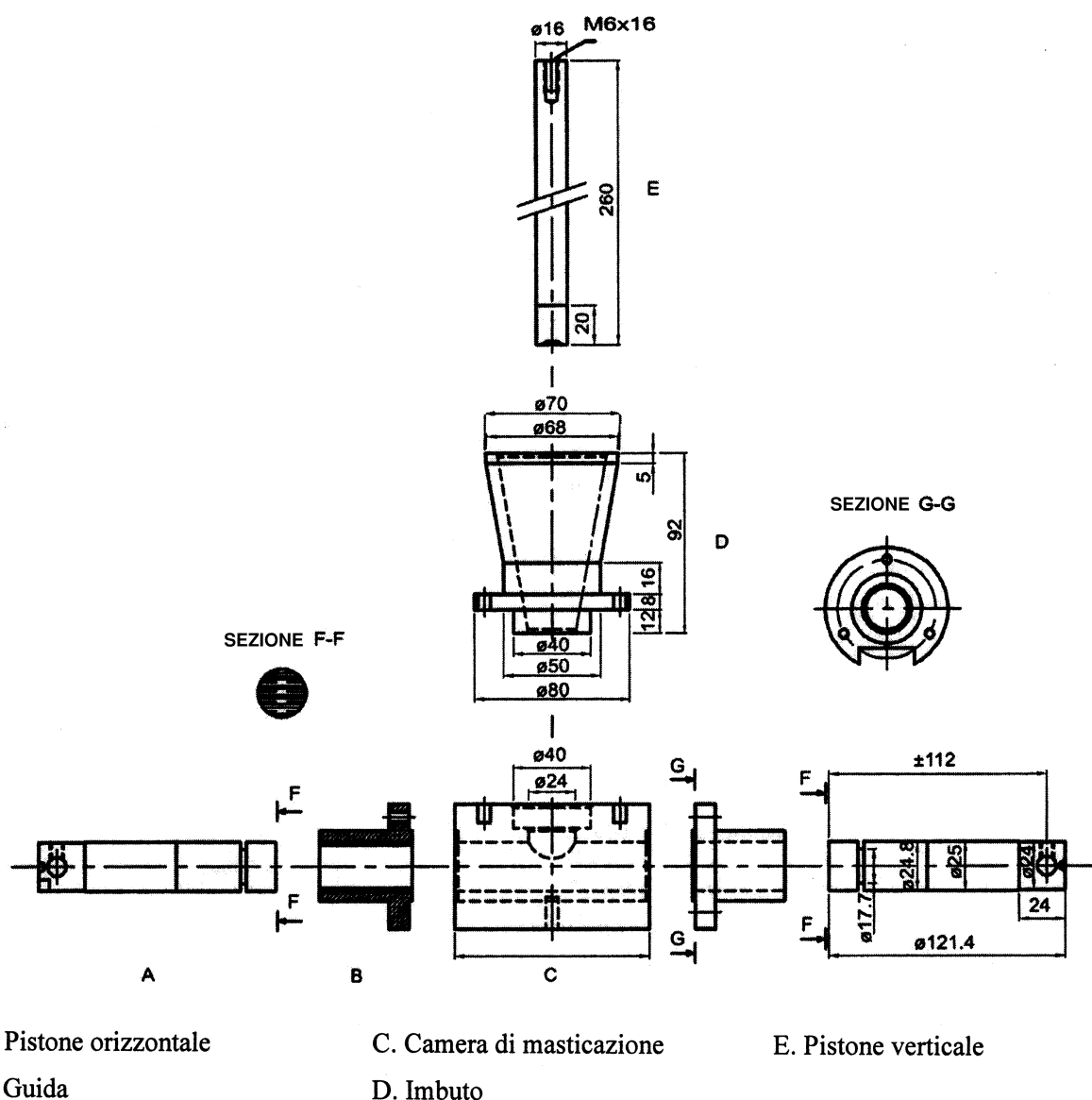


Figura 2.9.25.-1. Camera di masticazione e pistoni
(dimensioni in millimetri)

PROCEDIMENTO

Per ciascuna determinazione sono necessarie le seguenti informazioni:

- composizione, volume e temperatura del mezzo di dissoluzione,
- numero dei cicli di masticazione per minuto,
- condizioni di campionamento (tempo e metodo),
- se l'analisi viene effettuata sul residuo della gomma o sul mezzo di dissoluzione,
- metodo di analisi

Introdurre il prescritto volume del mezzo di dissoluzione nella camera di masticazione, normalmente 20 ml di *tampone fosfato soluzione pH 6,0 R2*. Mantenere la temperatura del mezzo a $37 \pm 0,5$ °C mediante un dispositivo elettrico avente un controllo esterno. Fissare la velocità del pistone al prescritto numero di cicli di masticazione per minuto (normalmente 60). Pesare esattamente una porzione di gomma da masticare o l'intera gomma, introdurla nella camera di masticazione e mettere in moto l'apparecchiatura.

CAMPIONAMENTO E VALUTAZIONE

Fermare l'apparecchiatura al tempo prescritto. Rimuovere il residuo della gomma e prelevare un campione del mezzo di dissoluzione. Determinare il contenuto della sostanza (e) attiva (e) mediante un metodo appropriato. Il volume del mezzo di dissoluzione che è stato prelevato può essere rimpiazzato dopo ogni prelevamento ma è necessario applicare ai risultati una correzione numerica per tener conto della variazione di volume o della diluizione del campione. Alternativamente determinare il contenuto della sostanza (e) attiva (e) rimasto nel residuo della gomma. Effettuare successivamente il saggio su 6 gomme da masticare medicate.

La quantità di sostanza (e) attiva (e) disciolta in un tempo prescritto viene espressa come percentuale del contenuto dichiarato in etichetta.

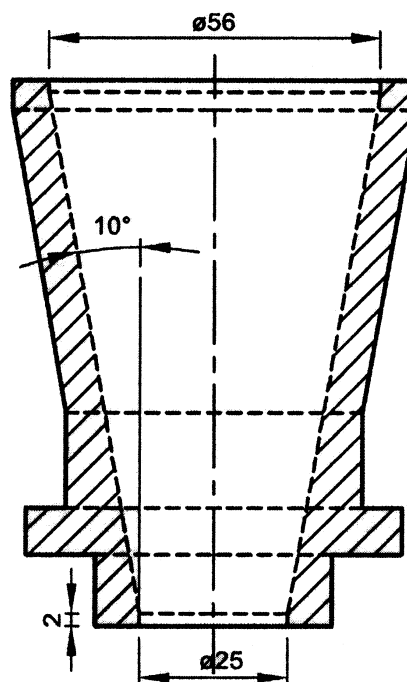


Figura 2.9.25.-2. Imbuto (dimensioni in millimetri)

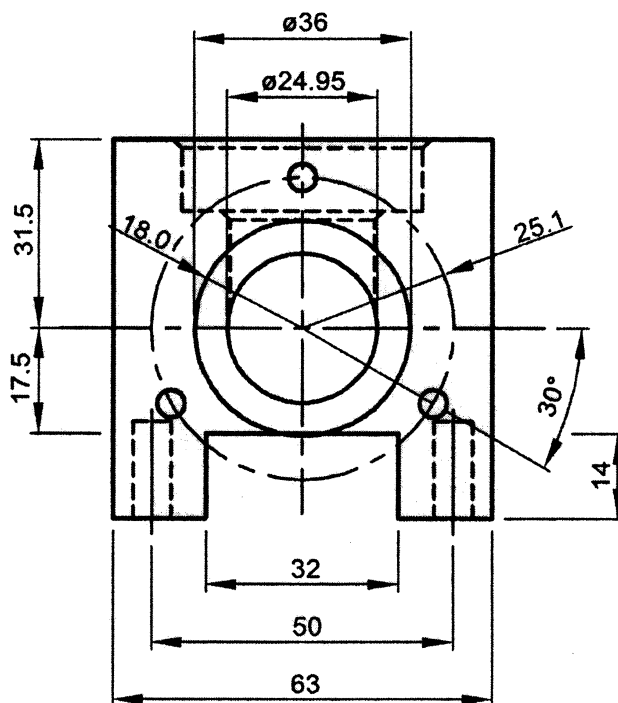


Figura 2.9.25.-3. Guida (sezione G-G) (dimensioni in millimetri)

2.9.26. AREA SUPERFICIALE SPECIFICA MEDIANTE ADSORBIMENTO DI GAS

INTRODUZIONE

L'area superficiale specifica di una polvere è determinata mediante l'adsorbimento fisico di un gas sulla superficie di un solido e calcolando la quantità di gas adsorbito sotto forma di uno strato monomolecolare sulla superficie. L'adsorbimento fisico è il risultato delle interazioni deboli (forze di van der Waals) tra le molecole del gas adsorbito e la superficie adsorbente della polvere in esame. La determinazione viene generalmente effettuata alla temperatura dell'azoto liquido. La quantità di gas adsorbito può essere misurata mediante una procedura volumetrica o a flusso continuo.

TEORIA DI BRUNAUER, EMMETT E TELLER (BET) E DETERMINAZIONE DELL'AREA SUPERFICIALE SPECIFICA

MISURA A PUNTO MULTIPLIO

I dati sono trattati in accordo con l'equazione dell'adsorbimento isothermico di Brunauer, Emmett e Teller (BET):

$$\frac{1}{\left[V_a \left(\frac{P_o}{P} - 1 \right) \right]} = \frac{C - 1}{V_m C} \times \frac{P}{P_o} + \frac{1}{V_m C} \quad (1)$$

P = pressione di vapore parziale del gas adsorbito in equilibrio con la superficie a 77,4 K (punto di ebollizione dell'azoto liquido) in pascal,

P_o = pressione di saturazione del gas adsorbito, in pascal,

V_a = volume del gas adsorbito alla temperatura e alla pressione standard [273,15 K e pressione atmosferica ($1,013 \times 10^5$ Pa)], in millilitri,

V_m = volume del gas adsorbito alla temperatura e alla pressione standard per produrre un monostrato apparente sulla superficie del campione, in millilitri,

C = costante, senza dimensioni, correlata alla entalpia di adsorbimento del gas adsorbito sul campione di polvere.

Effettuare una misura di V_a per almeno tre valori di P/P_o .

Poi il valore della variabile BET

$$\frac{1}{\left[V_a \left(\frac{P_o}{P} - 1 \right) \right]}$$

è riportato in diagramma in funzione di P/P_o secondo l'equazione (1). Questo tracciato dovrebbe dare normalmente una linea retta nell'intervallo di pressione

relativa compresa tra 0,05 a 0,3. I dati sono considerati accettabili se il coefficiente di correlazione r della regressione lineare non è inferiore a 0,9975; cioè r^2 non è inferiore a 0,995. Dal tracciato lineare risultante, la pendenza, che è uguale a $(C-1)/V_m C$, e l'intercetta, che è uguale a $1/V_m C$, sono valutate mediante analisi di regressione lineare. Da questi valori V_m è calcolato come $1/(pendenza + intercetta)$, mentre C è calcolato come $(pendenza/intercetta) + 1$. Dal valore di V_m così determinato, l'area superficiale specifica S in $m^2 \cdot g^{-1}$, è calcolata con l'equazione:

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

N = costante di Avogadro ($6,022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$),

a = area effettiva della sezione trasversale di una molecola adsorbita, in metri quadri ($0,162 \text{ nm}^2$ per l'azoto e $0,195 \text{ nm}^2$ per il kripton),

m = massa di polvere in esame, in grammi,

22400 = volume, in millilitri, occupato da 1 mole di gas adsorbito alla temperatura e alla pressione standard tollerando lievi deviazioni rispetto alla situazione ideale.

Sono necessari almeno 3 punti di misura. Misurazioni supplementari possono essere effettuate, in particolare quando si ottiene non-linearità ad un valore di P/P_o vicino a 0,3. Poiché la curva è spesso non-lineare ai valori di P/P_o inferiori a 0,05 è consigliato di effettuare misure in questo dominio di valori.

Il saggio di linearità, il modo di trattare i dati ed il metodo di calcolo dell'area superficiale specifica sono sopra descritti.

MISURA A PUNTO SINGOLO

Normalmente, almeno 3 misurazioni di V_a ciascuna a differenti valori di P/P_o sono richieste per la determinazione dell'area superficiale specifica mediante adsorbimento gassoso sia che la misura venga effettuata in flusso dinamico (*Metodo I*) che in adsorbimento volumetrico di gas (*Metodo II*). Comunque, in alcune circostanze sotto descritte, può essere accettabile determinare l'area superficiale specifica di una polvere da un solo valore di V_a misurato ad un punto singolo di P/P_o come 0,300 (corrispondente a 0,300 moli di azoto o ad una frazione molare di kripton pari a 0,001038), usando la seguente equazione per il calcolo di V_m :

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

L'area superficiale specifica è calcolata dal valore di V_m mediante l'equazione (2) descritta sopra.

Il metodo a punto singolo può essere impiegato direttamente per una serie di campioni di polvere di un dato materiale per il quale la costante C del materiale è alquanto maggiore dell'unità. Queste circostanze possono essere verificate confrontando i valori dell'area superficiale specifica determinati con il metodo a punto singolo con quelli determinati con il metodo a punto multiplo per le serie di campioni di polvere. Una stretta somiglianza tra i valori ottenuti con i due metodi suggerisce che $1/C$ si avvicina a zero.

Il metodo a punto singolo può essere impiegato indirettamente per una serie di campioni di polvere molto simili di un dato materiale per il quale la costante C non è infinita ma può essere assunta come non variabile. In queste circostanze, l'errore associato con il metodo a punto singolo può essere ridotto o eliminato usando il metodo a punto multiplo per valutare C per uno dei campioni delle serie a partire dalla rappresentazione della funzione BET, dalla quale C è calcolata come $(1 + \text{pendenza}/\text{intercetta})$.

Poi V_m è calcolato dal solo valore di V_a misurato ad un valore singolo di P/P_o con l'equazione:

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

L'area superficiale specifica è calcolata da V_m con l'equazione (2) descritta sopra.

TECNICHE SPERIMENTALI

Questa sezione descrive i metodi da usare per la preparazione del campione e per la messa a punto dei metodi di adsorbimento gassoso in flusso dinamico (*Metodo I*) e volumetrico (*Metodo II*).

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Degassamento

Prima di poter determinare l'area superficiale specifica di un campione, è necessario rimuovere i gas e i vapori che possono essere fisicamente adsorbiti sulla superficie dopo la produzione e durante il trattamento, maneggiamento e conservazione. Se non si ottiene il degassamento, l'area superficiale specifica può essere sottostimata o può essere variabile perché un'area parziale della superficie è ricoperta con le molecole dei gas o dei vapori previamente adsorbiti. Le condizioni di degassamento sono critiche per ottenere la precisione e

l'accuratezza consone per le misure dell'area superficiale specifica delle preparazioni farmaceutiche a causa della sensibilità della superficie di tali prodotti.

Condizioni. Si deve dimostrare che le condizioni di degassamento applicate danno tracciati BET riproducibili, un peso costante della polvere in esame e non rivelabili cambiamenti fisici o chimici nella polvere in esame.

Le condizioni di degassamento definite dalla temperatura, dalla pressione e dal tempo dovrebbero essere scelte in modo da assicurare il più possibile il mantenimento dello stato iniziale della superficie. Il degassamento di molte sostanze è spesso ottenuto applicando un vuoto, purificando il campione in una corrente di un gas inerte o secco o applicando un metodo ciclico di desorbimento/adsorbimento. In tutti i casi si applicano a volte temperature elevate per accelerare l'eliminazione dei contaminanti dalla superficie. Quando si usano temperature elevate per degassare campioni di polveri, debbono essere prese adeguate precauzioni al fine di non influenzare la natura della superficie e l'integrità del campione. Se si procede mediante riscaldamento, è bene utilizzare una temperatura e dei tempi di degassamento più bassi possibile al fine di poter misurare in modo riproducibile l'area superficiale specifica entro un tempo accettabile.

Per il degassamento di campioni sensibili, possono essere impiegati altri metodi di degassamento come il metodo ciclico dell'adsorbimento-desorbimento.

Gas di misura

La tecnica standard è l'adsorbimento di azoto di qualità analitica alla temperatura dell'azoto liquido.

Per le polveri con area superficiale specifica piccola ($< 0,2 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) la proporzione di gas adsorbito è bassa. In questi casi l'uso del kripton alla temperatura dell'azoto liquido è preferito in quanto la bassa pressione di vapore esercitata da questo gas riduce grandemente l'errore. Quando è possibile, l'uso di una quantità di campione più grande (equivalente ad 1 m^2 o più di area superficiale totale, quando viene usato azoto) può compensare gli errori nella determinazione di aree superficiali piccole.

Tutti i gas usati devono essere privi di umidità.

Metodo I: il metodo a flusso dinamico

Quantità di campione

Pesare accuratamente una quantità della polvere in esame in modo che la superficie totale del campione sia almeno 1 m^2 quando il gas di misura è l'azoto e $0,5 \text{ m}^2$ quando il gas di misura è il kripton.

Quantità più piccole di campione possono essere usate dopo appropriata convalida.

MISURE

Poiché la quantità di gas adsorbito ad una data pressione tende ad aumentare con il decrescere della temperatura, le misure di adsorbimento sono fatte usualmente ad una temperatura bassa. La misurazione è eseguita a $77,4 \text{ K}$, il punto di ebollizione dell'azoto liquido.

Principio

Nel metodo a flusso dinamico (vedi Figura 2.9.26.-1), il gas di misura raccomandato è azoto secco o kripton, mentre l'elio è impiegato come gas diluente che non è adsorbito nelle condizioni raccomandate.

Un minimo di 3 miscele costituite da elio e gas di misura sono richieste entro l'intervallo P/P_0 compreso tra 0,05 e 0,30.

Il rivelatore-integratore del gas dovrebbe produrre un segnale che è approssimativamente proporzionale al volume del gas che lo attraversa in condizioni definite di temperatura e pressione. Per questo scopo, un rivelatore di conduttività termica con un integratore elettronico è uno fra i vari tipi adatti. Deve essere determinato un minimo di 3 punti corrispondenti a dei valori di P/P_0 compresi nell'intervallo raccomandato di 0,05-0,30.

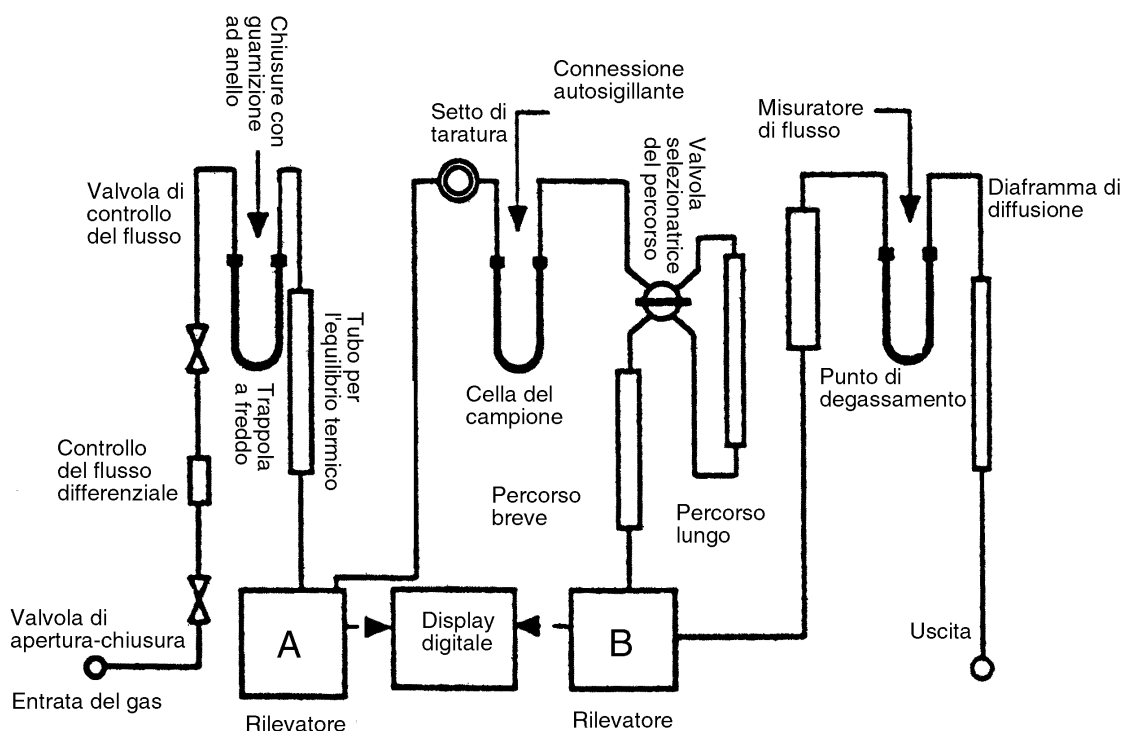


Figura 2.9.26.-1. Schema dell'apparecchiatura del metodo a flusso dinamico

Procedimento

Una miscela nota di gas, usualmente azoto ed elio, è fatta passare attraverso una cella a conduttività termica, quindi attraverso il campione e di nuovo attraverso la cella a conduttività termica che invia un segnale ad un potenziometro registratore.

Immergere la cella campione nell'azoto liquido: il campione adsorbe azoto dalla fase mobile. Questo squilibria la cella a conduttività termica che invia un segnale al registratore.

Rimuovere il campione dal liquido refrigerante; questo dà luogo ad un picco di desorbimento uguale nell'area e in direzione opposta al picco di adsorbimento. Poiché questo è definito meglio del picco di adsorbimento, è quello che viene usato per la determinazione.

Per effettuare la taratura, iniettare nel sistema una quantità nota di gas di misura e sufficiente a produrre un picco di grandezza simile al picco di desorbimento e determinare la proporzione del volume di gas adsorbito per unità di area del picco.

Usare una miscela di azoto/elio per una determinazione a punto singolo. Per una determinazione a punto multiplo utilizzare più miscele di questo tipo o procedere al mescolamento di due correnti gassose.

Il calcolo è essenzialmente lo stesso come per il metodo volumetrico.

Metodo II: il metodo volumetrico

Principio

Nel metodo volumetrico (vedi Figura 2.9.26.-2), il gas di misura raccomandato è l'azoto che è immesso nello spazio evacuato sopra la polvere campione previamente degassata per dare luogo ad una pressione di equilibrio definita P . L'uso di un gas diluente come l'elio, non è perciò necessario, benché l'elio possa essere impiegato per altri scopi, come per misurare il volume morto.

In questo metodo poiché è impiegato solo gas di misura puro, e non una miscela di gas, gli effetti interferenti di diffusione termica sono evitati.

Procedimento

Immettere una piccola quantità di azoto secco nel tubo del campione per prevenire la contaminazione della superficie pulita, rimuovere il tubo del campione, inserire la chiusura e pesarlo. Calcolare la massa del campione. Connettere il tubo del campione con l'apparecchio volumetrico.

Fare cautamente il vuoto nel tubo fino ad una pressione definita (per esempio tra 2 Pa e 10 Pa). Alcune apparecchiature possono fare il vuoto secondo una variazione di pressione definita in funzione del tempo (per esempio meno di 13 Pa/30s) e mantenere tale pressione per un certo tempo prima di passare alla fase successiva.

Se il principio di funzionamento della strumentazione richiede la misura di un volume morto nel tubo del campione, per esempio mediante l'introduzione di un gas non adsorbito come l'elio, effettuare allora questa determinazione e quindi procedere alla evacuazione del gas. La determinazione del volume morto può essere evitata effettuando delle misure differenziali, ovvero utilizzando un tubo del campione ed un tubo di riferimento connessi mediante un trasduttore differenziale.

L'adsorbimento dell'azoto gassoso viene quindi misurato come di seguito descritto.

Immergere fino ad un certo punto la cella del campione in un vaso di Dewar contenente azoto liquido a 77,4 K. Introdurre nel sistema un volume di gas di misura sufficiente per ottenere la pressione relativa più bassa desiderata e misurare il volume adsorbito V_a . Nel caso della determinazione a punto multiplo ripetere la misura di V_a per valori crescenti di P/P_0 .

Quando il gas di misura utilizzato è l'azoto sono appropriati valori di P/P_0 di 0,10 ÷ 0,20 ÷ 0,30.

MATERIALI DI RIFERIMENTO

Verificare periodicamente la funzionalità dell'apparecchio usando materiali di riferimento appropriati di area superficiale nota, come la α -allumina, che dovrebbero avere un'area superficiale specifica comparabile con quella del campione da esaminare.

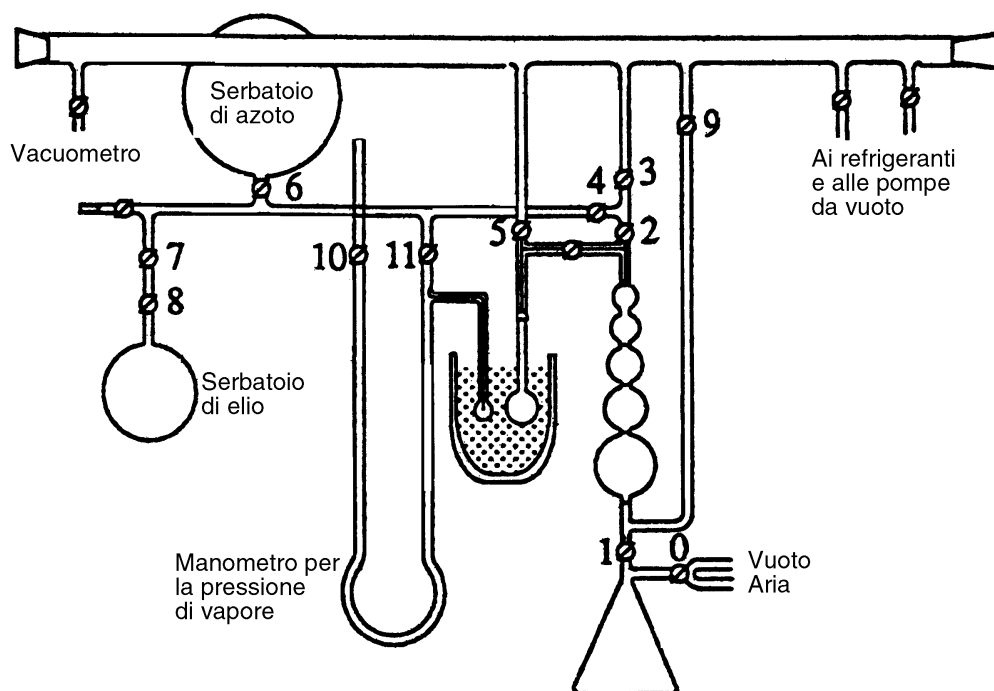


Figura 2.9.26.-2. Diagramma schematico dell'apparecchiatura per il metodo volumetrico

2.9.27. UNIFORMITÀ DI MASSA DELLE DOSI RILASCIATE DA CONTENITORI MULTIDOSE

Il saggio seguente è rivolto alle forme farmaceutiche orali come granulati, polveri per uso orale e liquidi per uso orale, che sono forniti in contenitori multidose dotati alla produzione di un dispositivo di misurazione.

Pesare individualmente venti dosi prese a caso da uno o più contenitori con il dispositivo di misurazione fornito e determinare le masse individuali e medie. Non più di due delle masse individuali deviano dalla massa media di più del 10 per cento e nessuna devia di più del 20 per cento.

2.9.29. DISSOLUZIONE INTRINSECA

Il saggio serve a determinare la velocità intrinseca di dissoluzione di sostanze solide, pure, dopo compattazione. Si effettua secondo condizioni sperimentali specificate tali da ottenere una misura pratica della velocità intrinseca di dissoluzione.

La velocità intrinseca di dissoluzione è un valore teorico riferito a sostanze solide pure, aventi porosità

nulla, ma, in pratica, la velocità intrinseca di dissoluzione viene determinata su sostanze aventi porosità minima.

PRINCIPIO

La velocità intrinseca di dissoluzione è definita come la velocità di dissoluzione di sostanze pure, dopo una compattazione, in condizione di superficie costante. La sua valutazione è utile per la caratterizzazione delle sostanze attive e degli eccipienti.

La velocità di dissoluzione di una sostanza pura può essere influenzata da tutte le proprietà dello stato solido, come l'aspetto del cristallo, la cristallinità, l'amorfismo, il polimorfismo, lo pseudo-polimorfismo, le dimensioni delle particelle e l'area superficiale specifica. Inoltre, essa può essere influenzata da fattori estrinseci (condizioni di saggio) come le condizioni idrodinamiche, la temperatura, la viscosità, il pH, il potere tampone e la forza ionica del mezzo di dissoluzione.

La valutazione della velocità intrinseca di dissoluzione implica la preparazione di un "compatto" (ovvero un campione compattato). Prima di effettuare il saggio è

necessario assicurarsi che la polvere che deve essere sottoposta al saggio abbia appropriate proprietà di compattazione.

La velocità intrinseca di dissoluzione viene determinata esponendo una superficie costante della sostanza compattata ad un adatto mezzo di dissoluzione, mantenendo costante la velocità di agitazione, la temperatura, la forza ionica ed il pH.

La velocità intrinseca di dissoluzione viene espressa in termini di massa di sostanza disciolta per unità di tempo e per unità di superficie esposta, ossia in milligrammi per minuto per centimetro quadrato ($\text{mg}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$).

APPARECCHIATURA

L'apparecchio tipo consiste in un punzone ed una matrice fabbricati con acciaio temperato. La base della matrice presenta tre fori filettati che permettono di fissare una placca, piana, in acciaio lucido che fornisce al compatto una base liscia come uno specchio. La matrice presenta una cavità con un diametro di 0,1–1,0 cm nella quale viene posto un quantitativo misurato della polvere che deve essere esaminata. Nella cavità della matrice si inserisce il punzone e si comprime il materiale utilizzando, normalmente, una pressa idraulica da laboratorio. Un foro, che passa attraverso la testa del punzone, permette l'inserimento di una asticella metallica per facilitarne, dopo il saggio, la rimozione dalla matrice. Nella cavità si forma un compatto con una unica faccia, con superficie definita, esposta sul fondo della matrice (vedi Figura 2.9.29.-1). Il fondo della cavità della matrice presenta una apertura dimensionata in modo tale che il compatto possa disciogliersi almeno per il 50-75 per cento senza cadere dalla matrice.

La testa della matrice presenta un bordo filettato che permette di fissarla ad un supporto. Il supporto viene fissato ad un agitatore da laboratorio e l'intera matrice, con il compatto ancora "in situ", viene immersa nel mezzo di dissoluzione e posta in rotazione dall'agitatore.

PROCEDIMENTO

Su della carta per pesate, pesare la polvere. Fissare la placca metallica sulla faccia inferiore della matrice con l'aiuto delle tre viti fornite a tale scopo. Trasferire il campione di polvere da analizzare nella cavità della matrice. Introdurre il punzone nella matrice e fissare la placca metallica posta sopra l'insieme dei componenti. Comprimerne la polvere

con una pressa idraulica applicando una adeguata pressione per un tempo sufficiente a garantire un compatto stabile con porosità minima; occorre prevenire, per quanto possibile, la disaggregazione del compatto, perché causerebbe un incremento della superficie esposta e, quindi, della velocità di dissoluzione. Smontare la placca metallica ed avvitare, saldamente, la matrice, con il punzone ancora inserito, al supporto. Con una corrente d'aria compressa o di azoto pulire la superficie della matrice per eliminare i residui di polvere libera.

Fissare l'insieme matrice-supporto all'apparecchio di dissoluzione con l'ausilio di un dispositivo di serraggio. Posizionare l'albero nel mandrino in modo tale che quando l'insieme è nella posizione più bassa, la superficie esposta del compatto sia a 3,8 cm dal fondo del recipiente. Procedere all'allineamento in modo da ridurre al minimo l'oscillazione ed impedire la formazione di bolle d'aria che rischierebbero di ridurre la superficie del compatto in contatto con il mezzo di dissoluzione. Se possibile si mantengono, per tutta la durata del saggio, le condizioni di immersione. Comunque, per ottenere concentrazioni rilevabili del soluto, può essere necessario impiegare un volume relativamente piccolo del mezzo di dissoluzione, come conseguenza del fatto che la superficie esposta al mezzo di dissoluzione è limitata.

Portare il mezzo di dissoluzione alla temperatura scelta per il saggio. Abbassare l'apparato di misura nella posizione prevista, prima di iniziare la rotazione. Prestare attenzione ad evitare la formazione di bolle d'aria sulla superficie del compatto perché queste potrebbero ridurre la superficie in contatto con il mezzo di dissoluzione. Mettere immediatamente in funzione l'apparecchio alla velocità di rotazione scelta per il saggio.

Ad intervalli di tempo prefissati, raccogliere campioni ed analizzarli con un metodo di analisi avente una adeguata sensibilità e accuratezza.

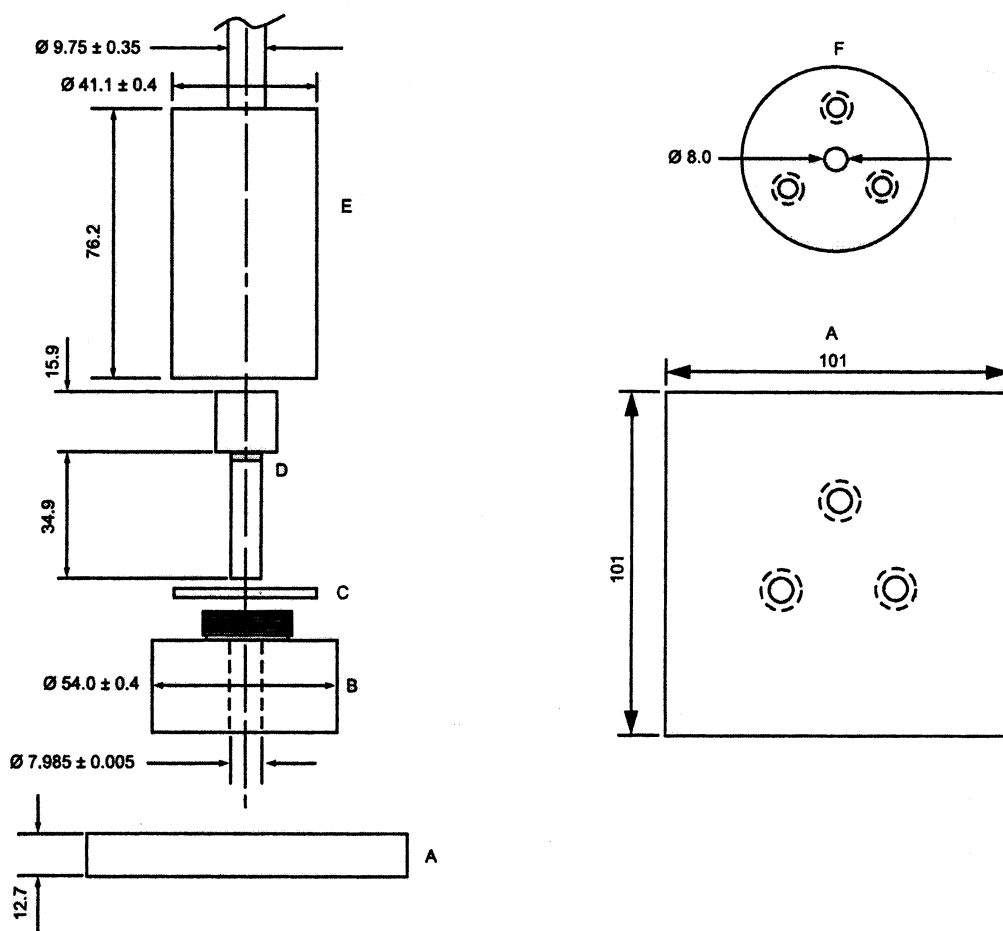
VALUTAZIONE DEI RISULTATI

I dati relativi alla quantità cumulativa disciolta a ciascun tempo vengono corretti per compensare le perdite dovute al campionamento. Per calcolare la velocità intrinseca di dissoluzione tracciare un grafico della quantità cumulativa di sostanza disciolta, per unità di superficie di polvere compattata, in funzione del tempo. La quantità cumulativa disciolta per unità di superficie è data dalla quantità cumulativa

disciolta ad ogni tempo di campionamento, divisa per la superficie esposta. I dati sperimentali, normalizzati, relativi ad un appropriato intervallo di tempo che precede la possibile disaggregazione del compatto, sono poi sottoposti ad una analisi di regressione lineare. La velocità intrinseca di dissoluzione della sostanza sottoposta al saggio, espressa in milligrammi per minuto per centimetro quadrato, viene ricavata dalla pendenza della retta di regressione. Assieme al valore ottenuto per la velocità intrinseca di dissoluzione devono essere precisate le esatte con-

dizioni di preparazione del compatto e di esecuzione del saggio (mezzo di dissoluzione, volume del mezzo utilizzato, velocità di rotazione, temperatura, ecc.).

NOTA: quando necessario e giustificato, può essere impiegato un apparecchio avente una diversa configurazione come, ad esempio, un apparecchio in cui il supporto della matrice mantiene il compatto in posizione verticale fissa e l'agitazione è garantita da una paletta posizionata ad una definita distanza dalla superficie del compatto.



- A. Placca
- B. Matrice
- C. Guarnizione in neoprene
- D. Punzone
- E. Insieme supporto-albero
- F. Faccia inferiore della matrice

Figura 2.9.29.-1. *Apparecchio tipo utilizzato per ottenere il compatto necessario per la determinazione della dissoluzione intrinseca.*
Dimensioni in millimetri

2.9.31. ANALISI DELLE DIMENSIONI DELLE PARTICELLE MEDIANTE DIFFRAZIONE DELLA LUCE LASER

Il metodo descritto è basato sulle norme ISO 13320-1 (1999) e 9276-1 (1998)

INTRODUZIONE

La tecnica di diffrazione della luce laser usata per la determinazione della distribuzione delle dimensioni delle particelle si basa sulla analisi del profilo di diffrazione che si ottiene quando delle particelle vengono esposte ad un fascio di luce monocromatica. I primi strumenti di diffrattometria laser utilizzavano esclusivamente la diffusione luminosa ad angolo piccolo. La tecnica è stata comunque perfezionata per includere la diffusione luminosa con un intervallo angolare più grande, l'applicazione della teoria di Mie oltre che l'approssimazione di Fraunhofer e la diffrazione anomala.

La diffrazione laser non permette di distinguere la diffusione dovuta a particelle singole da quella derivante da insiemi di particelle primarie i.e. agglomerati o aggregati. Poiché la gran parte dei campioni di particelle è costituito da agglomerati o aggregati mentre l'interesse è generalmente quello di conoscere la distribuzione delle dimensioni delle particelle primarie è opportuno procedere, prima della misura, alla dispersione degli agglomerati in particelle singole.

Nel caso di particelle non sferiche la distribuzione granulometrica ottenuta è quella delle sfere equivalenti in quanto la tecnica, nel suo modello ottico associato, assume una sfericità delle particelle stesse. La distribuzione granulometrica risultante può differire da quella ottenuta mediante metodi basati su altri principi fisici (e.g. sedimentazione, setacciatura).

Il presente capitolo costituisce una guida per l'analisi della distribuzione granulometrica delle particelle in sistemi diversi (come ad esempio, polveri, spray, aerosol, sospensioni, emulsioni, bolle di gas in un liquido), mediante l'analisi della loro diffusione luminosa sotto diverso angolo. Questo stesso capitolo non ha come obiettivo quello di definire specifiche esigenze da utilizzare per la misura della granulometria di prodotti particolari.

PRINCIPIO

Un campione rappresentativo, disperso ad adeguata concentrazione in un appropriato liquido o gas, viene attraversato da un fascio di luce monocromatica, generalmente prodotto da una sorgente laser. La luce diffusa dalle particelle ad angoli diversi viene misurata mediante un rivelatore a più elementi (rivelatore multiplo). I dati numerici rappresentanti il profilo di diffu-

sione vengono registrati per una successiva analisi. Questi dati di diffusione vengono infatti trasformati, mediante un appropriato modello ottico ed un adeguato algoritmo matematico, per ottenere una ripartizione del volume totale in un numero discreto di classi dimensionali ovvero una distribuzione granulometrica espressa in volume.

APPARECCHIATURA

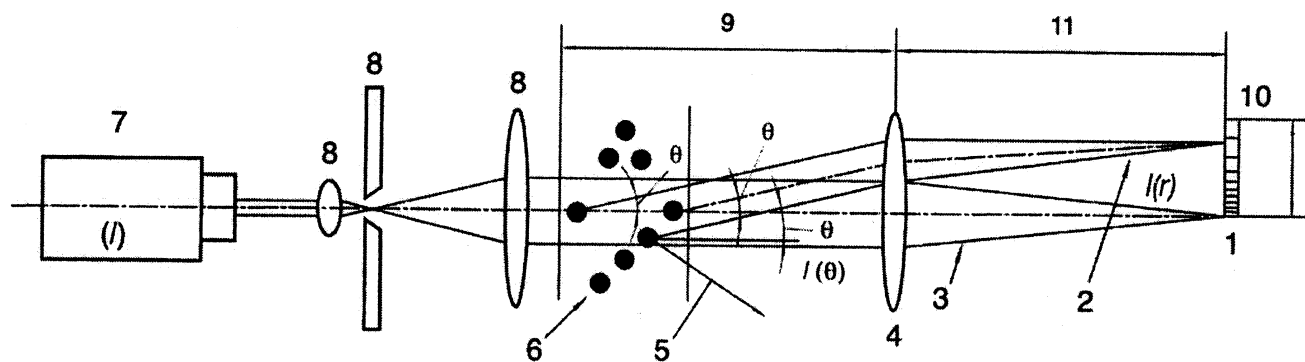
La figura 2.9.31. 1 rappresenta un esempio di un dispositivo strumentale per diffrattometria laser. Possono comunque essere usate altre apparecchiature.

Lo strumento comprende una sorgente luminosa laser, delle componenti ottiche per la definizione del fascio luminoso, una regione (o cella) di misura, una lente di Fourier, un rivelatore a più elementi per la misura del profilo di diffrazione. E' anche necessario un sistema per il trattamento dei dati che permetta

- la conversione, mediante deconvoluzione, dei dati di diffusione in distribuzione granulometrica (espressa) in volume,
- le operazioni associate all'analisi dei dati,
- la presentazione dei risultati.

Le particelle possono essere messe lungo il fascio laser in due posizioni. Nel caso convenzionale della geometria classica, le particelle incontrano il fascio parallelo prima della lente collettrice ed entro la sua distanza di lavoro. Nel caso della geometria detta "ottica di Fourier inversa" le particelle incontrano il fascio laser dopo la lente collettrice, cioè incontrano un fascio convergente. Il vantaggio della geometria classica è quello di avere per il campione una ragionevole lunghezza del cammino ottico entro la distanza di lavoro della lente. Il secondo dispositivo permette solo piccole lunghezze del cammino ottico, ma rende possibile la misura della luce diffusa ad angoli più grandi, il che è utile quando sono presenti particelle aventi dimensioni submicroniche.

L'interazione del fascio di luce incidente con l'insieme delle particelle disperse dà luogo ad un profilo di diffusione nel quale le intensità luminose variano secondo l'angolo considerato. La distribuzione angolare totale dell'intensità, costituita sia dalla luce diretta che dalla luce diffusa, viene quindi focalizzata su un rivelatore a più elementi mediante una lente o una serie di lenti. Queste lenti danno luogo ad un profilo di diffusione che è, entro certi limiti, indipendente dalla localizzazione delle particelle nel fascio luminoso. La distribuzione angolare continua dell'intensità può quindi essere convertita, su una serie di elementi rivelatori, in distribuzione spaziale discreta dell'intensità.



- | | | |
|------------------------------|---|---------------------------------------|
| 1. Rivelatore di otturazione | 5. Luce diffusa non captata dalla lente (4) | 9. Distanza di lavoro della lente (4) |
| 2. Fascio diffuso | 6. Insieme delle particelle | 10. Rivelatore a più elementi |
| 3. Fascio diretto | 7. Sorgente di luce laser | 11. Distanza focale della lente (4) |
| 4. Lente di Fourier | 8. Unità ottica per il trattamento del fascio | |

Figura 2.9.31.-1. Esempio di un dispositivo strumentale di diffrattometria laser

Una delle ipotesi del calcolo è che il profilo di diffusione misurato per l'insieme delle particelle è identico alla somma delle immagini generate individualmente dalle particelle dispersive presenti in posizioni relative casuali. C'è da sottolineare che solo un limitato intervallo angolare della luce diffusa viene raccolto dalla lente (i) e quindi dal rivelatore.

SVILUPPO DEL METODO

Tradizionalmente la misura delle dimensioni delle particelle mediante diffrazione laser è stata limitata alle particelle aventi dimensione comprese nell'intervallo tra circa 0,1 μm e 3 mm. A seguito dei recenti progressi realizzati nella concezione di lenti e strumenti, alcune nuove apparecchiature sono in grado di operare routinariamente in un intervallo maggiore. È compito dell'utilizzatore dimostrare, mediante il rapporto di convalida, l'applicabilità del metodo all'uso previsto.

Campionamento. La tecnica di campionamento utilizzata deve permettere di ottenere un campione rappresentativo, di volume adeguato alla misurazione delle dimensioni delle particelle (i.e. alle misure granulometriche).

Valutazione della procedura di dispersione. La procedura di dispersione utilizzata deve essere adattata allo scopo della misura; può essere infatti preferibile disaggregare il più possibile in particelle primarie gli agglomerati o, al contrario, conservare al massimo l'integrità degli agglomerati stessi. In questo senso le particelle da considerare possono essere quelle primarie o gli agglomerati come tali.

Per lo sviluppo di un metodo si raccomanda vivamente di verificare che non avvenga una rottura delle particelle e che la dispersione delle particelle o degli aggregati sia soddisfacente. Ciò può essere fatto modificando l'energia di dispersione ed osservando la risultante variazione della distribuzione granulometrica. Quest'ultima non deve cambiare significativamente se il campione è ben disperso e le particelle non sono né fragili né solubili. Inoltre le particelle possono essere ispezionate visivamente o con l'aiuto di un microscopio. Conviene anche confermare l'applicabilità del metodo (e.g. per confronto al microscopio) qualora il processo di produzione (cristallizzazione, macinatura) del materiale sia stato modificato.

Nel caso di sistemi polverizzati, aerosols e bolle di gas in un liquido, la misura si effettua direttamente a condizione che la loro concentrazione sia adeguata in quanto il campionamento o la diluizione generalmente alterano la distribuzione granulometrica.

Negli altri casi come emulsioni, paste e polveri, campioni rappresentativi possono essere dispersi in liquidi appropriati. Si fa spesso ricorso ad agenti disperdenti (umettanti, stabilizzanti) e/o a sistemi meccanici (agitazione, ultrasuoni) per disagglomerare o disaggregare insieme di particelle e per stabilizzare la dispersione. Per queste dispersioni liquide si utilizza comunemente un sistema a ricircolazione costituito da una cella per la misura ottica, un bagno di dispersione con un agitatore ed un generatore di ultrasuoni, una pompa e alcune tubature. Celle senza ricircolazione ma con agi-

tazione sono utili solo quando si dispone di piccole quantità di campione o quando vengono usati speciali liquidi di dispersione.

Le polveri secche possono anche essere convertite in aerosols per mezzo di appropriati sistemi di dispersione di polveri secche che danno luogo ad un processo di disagglomerazione o disaggregazione mediante sistemi meccanici. Questi sistemi di dispersione usano, generalmente, l'energia di un gas compresso o la pressione differenziale in rapporto al vuoto al fine di disperdere le particelle e convertirle in un aerosol che viene sospinto a traversare la zona di misura, generalmente verso l'entrata di una unità da vuoto dove sono raccolte le particelle. Tuttavia nel caso di granuli o particelle liberamente scorrevoli e grossolane, l'effetto della gravità può essere sufficiente ad assicurare una loro adeguata dispersione.

Ottimizzazione della dispersione liquida. I liquidi e gli agenti tensioattivi o disperdenti utilizzati per la dispersione delle polveri devono:

- essere trasparenti alla lunghezza d'onda laser utilizzata e praticamente privi di bolle d'aria o di particelle;
- avere un indice di rifrazione diverso da quello del materiale in esame;
- essere un non-solvente del materiale in esame (liquido puro o soluzione satura pre-filtrata);
- non alterare le dimensioni del materiale in esame (per esempio a seguito di solubilizzazione, di facilitazione della solubilizzazione o di effetti di ricristallizzazione);
- favorire la formazione e la stabilità della dispersione;
- essere compatibili con i materiali che costituiscono lo strumento (guarnizioni ad anello i.e. O-ring, guarnizioni, tubature);
- avere una viscosità adeguata a facilitare la ricircolazione, l'agitazione e la filtrazione.

Agenti tensioattivi e/o disperdenti sono spesso utilizzati per umettare le particelle e stabilizzare la dispersione. Per acidi e basi deboli, il tamponamento del mezzo di dispersione, rispettivamente a pH basso o alto, può essere di aiuto per identificare un appropriato agente disperdente. Una verifica preliminare della qualità della dispersione può essere realizzata mediante un esame visivo o microscopico. E' egualmente possibile effettuare dei prelievi frazionati da una dispersione madre ben omogeneizzata. Queste soluzioni madri vengono preparate aggiungendo un liquido al campione mentre si mescola, ad esempio, con una bac-

chetta di vetro, una spatola o un mescolatore vortex. Debbono essere prese precauzioni per assicurare un trasferimento rappresentativo del campione e per evitare la deposizione delle particelle più grandi.

Ottimizzazione della dispersione gassosa. Per gli spray e per le dispersioni di polveri secche può essere usato un gas compresso privo di olio, acqua e particelle. La rimozione di tali contaminanti può essere effettuata per mezzo di un essiccatore munito di filtro. Quando utilizzata, l'unità da vuoto dovrebbe essere posizionata lontano dalla zona di lavoro al fine di non disturbare la misurazione.

Determinazione delle concentrazioni di lavoro. Al fine di ottenere un accettabile rapporto segnale-rumore nel rivelatore, la concentrazione particellare della dispersione deve essere superiore ad un livello minimale (minimo). Egualmente non deve superare un valore massimale (massimo) in modo da evitare diffusioni multiple. L'intervallo della concentrazione di lavoro è influenzato dalla larghezza del fascio laser, la lunghezza del cammino ottico nella zona di misura, le proprietà ottiche delle particelle e la sensibilità degli elementi del rivelatore.

Ne consegue che le misurazioni debbono essere effettuate a diverse concentrazioni particellari in modo da determinare, per ogni tipico campione di materiale, l'appropriato intervallo della concentrazione di lavoro (Nota: i diversi strumenti esistenti utilizzano, per rappresentare le concentrazioni particellari, delle scale e delle grandezze diverse come ad esempio l'oscurazione, la concentrazione ottica, la proporzione in massa rispetto alla massa totale, ecc.).

Scelta del modello ottico. Per il calcolo della matrice di diffusione la gran parte degli strumenti usano sia la teoria di Fraunhofer sia la teoria di Mie anche se alcune volte si usano altre teorie di approssimazione. La scelta del modello teorico dipende dalla applicazione pianificata e dalle diverse assunzioni fatte per il materiale in esame (dimensioni, assorbanza, indice di rifrazione, rugosità, orientamento cristallino, miscela, ecc.). Se i valori dell'indice di rifrazione (parte reale e immaginaria alla lunghezza d'onda utilizzata) non sono conosciuti esattamente, è possibile ricorrere alla approssimazione di Fraunhofer o alla teoria di Mie per una stima realistica dell'indice di rifrazione. La prima ha il vantaggio di essere semplice, di non aver bisogno dei valori dell'indice di rifrazione e di essere estremamente utile per l'analisi delle polveri con granulometria superiore a circa 1-2 μm ; il secondo approccio, nel caso di particelle piccole, dà generalmente luogo a distribuzioni granulometriche meno distorte. Per la tracciabilità dei risultati è indispensabile documentare i valori

utilizzati per gli indici di rifrazione in quanto piccole differenze nei valori assunti per la parte reale ed immaginaria dell'indice di rifrazione complesso può dar luogo a significative differenze nei risultati della distribuzione granulometrica. Valori piccoli della parte immaginaria dell'indice di rifrazione (circa 0,01-0,1 i) vengono spesso utilizzati per permettere la correzione dell'assorbanza in funzione della rugosità della superficie delle particelle.

Ripetibilità. La ripetibilità ottenibile con il metodo considerato dipende essenzialmente dalle caratteristiche del materiale (macinato/non macinato, robusto/fragile, ampiezza della distribuzione delle dimensioni più o meno estesa, ecc.) mentre la ripetibilità richiesta dipende dall'obiettivo della misurazione. In questa monografia non è possibile specificare dei limiti di applicazione obbligatori in quanto la ripetibilità (preparazioni differenti del campione) può variare sensibilmente da una sostanza all'altra. Tuttavia è buona pratica tendere, per la ripetibilità, a dei criteri di accettazione tali che $s_{rel} \leq 10$ per cento [$n = 6$] per ogni valore centrale della distribuzione (i.e. per x_{50}). Valori ai lati della distribuzione (per esempio x_{10} e x_{90}) sono soggetti a criteri di accettazione meno stringenti quali $s_{rel} \leq 15$ per cento [$n = 6$]. Al di sotto di 10 μm questi valori debbono essere raddoppiati.

MISURAZIONI

Precauzioni. Debbono essere rispettate le istruzioni date nel manuale dell'apparecchiatura:

- non guardare mai nel fascio di luce laser diretto o riflesso;
- mettere a terra tutti i componenti dell'apparecchiatura per prevenire che i solventi prendano fuoco o le povere esplodano;
- verificare la messa a punto dell'apparecchiatura (e.g. riscaldamento, requisiti dell'intervallo di misura e delle lenti, appropriata distanza di lavoro, posizione del rivelatore, assenza di luce diretta da una sorgente intensa, ecc.);
- nel caso di dispersioni umide, evitare la formazione di bolle d'aria, l'evaporazione del liquido, l'esistenza di discontinuità della densità o altre forme di inomogeneità della dispersione. Egualmente nel caso di dispersioni secche evitare ogni perturbazione delle condizioni di flusso a massa costante all'uscita del sistema disperdente o gli effetti di turbolenza. Questi effetti possono dar luogo a distribuzioni granulometriche erronee.

Misura della diffusione della luce di campioni dispersi. Dopo un appropriato allineamento dei componenti ottici dello strumento è opportuno effettuare una misurazione in bianco del mezzo di dispersione privo di particelle. Il segnale di fondo ottenuto deve essere al di sotto di una appropriata soglia.

Generalmente, i tempi di misura utilizzati permettono di effettuare un gran numero di scansioni del rivelatore a brevi intervalli di tempo. Per ciascun elemento del rivelatore viene calcolato un segnale medio insieme, a volte, con la sua deviazione standard. L'ampiezza del segnale fornito da ciascun elemento del rivelatore dipende dalla superficie di rivelazione, dalla intensità della luce e dalla efficacia quantica. Le coordinate (dimensione e posizione) degli elementi del rivelatore e la distanza focale delle lenti determinano l'intervallo degli angoli di diffusione per ciascun elemento. La maggior parte degli strumenti misurano anche l'intensità del fascio laser centrale (non diffuso). Il rapporto tra le intensità ottenute rispettivamente in presenza del campione disperso ed in sua assenza (misura in bianco) indica la proporzione della luce diffusa e quindi la concentrazione particellare.

Conversione del profilo di diffusione in distribuzione granulometrica. Questa fase di deconvoluzione è l'inverso del calcolo di un profilo di diffusione per una data distribuzione granulometrica. L'ipotesi della sfericità delle particelle gioca qui un ruolo particolarmente importante in quanto la maggior parte degli algoritmi utilizza la soluzione matematica che corrisponde alla diffusione derivante da particelle sferiche. Inoltre i dati misurati contengono sempre un certo numero di errori aleatori e sistematici che possono viziare i risultati della distribuzione granulometrica. Diverse procedure matematiche sono state sviluppate per essere utilizzate nella strumentazione esistente. Esse comportano dei sistemi di ponderazione degli scarti tra profili di diffusione misurati e calcolati (e.g. minimi quadrati), delle restrizioni (e.g. non negatività della quantità delle particelle) e/o dei metodi di smussamento della curva di distribuzione granulometrica. Gli algoritmi utilizzati sono specifici per ogni tipo e modello di strumento, e sono brevettati. Le differenze negli algoritmi tra strumenti differenti possono dar luogo a differenze nei calcoli statistici granulometrici.

Replicazioni delle misure. Si raccomanda di definire caso per caso, nell'ambito di ciascun metodo specificamente applicabile, il numero di replicazioni (con preparazioni singole) da effettuare per campione.

PRESENTAZIONE DEI RISULTATI

I dati di una analisi granulometrica sono generalmente espressi sotto forma di distribuzione granulometrica cumulativa e/o di distribuzione di densità per volume. Il simbolo x viene usato per indicare la dimensione di una particella che, a sua volta, è definita come il diametro della sfera di volume equivalente. $Q_3(x)$ rappresenta la frazione in volume delle particelle aventi dimensione inferiore a x . In una rappresentazione grafica, la variabile x è riportata in ascissa e la variabile dipendente Q_3 in ordinata. I valori caratteristici usuali sono generalmente calcolati per interpolazione a partire dalla curva di distribuzione granulometrica. Tra i valori frequentemente utilizzati figurano le dimensioni particellari corrispondenti a frazioni cumulative del 10 per cento, 50 per cento e 90 per cento, rispettivamente indicate con x_{10} , x_{50} e x_{90} . Il valore x_{50} è anche conosciuto come dimensione particellare mediana. Per indicare la dimensione delle particelle viene anche largamente usato il simbolo d ; pertanto il simbolo x può essere sostituito dal simbolo d .

Inoltre debbono essere fornite tutte le informazioni utili concernenti il campione, la sua preparazione, le condizioni di dispersione ed il tipo di cella utilizzato. Poiché i risultati dipendono dallo strumento utilizzato, dal programma di analisi dei dati e dal modello ottico usato, è necessario documentare anche questi dettagli.

CONTROLLO DELLA PERFORMANCE DELL'APPARECCHIATURA

Usare l'apparecchiatura seguendo le istruzioni del fabbricante ed effettuare i controlli prescritti con una appropriata periodicità, in base all'uso dell'apparecchiatura ed alle sostanze da esaminare.

Calibrazione. I sistemi di diffrazione laser, sebbene assumano proprietà idealizzate delle particelle, sono fondati sui primi principi della diffusione della luce laser. Pertanto una calibrazione in senso stretto non è richiesta. E' tuttavia necessario confermare il buon funzionamento della strumentazione. Ciò può essere effettuato per mezzo di campioni o materiali di riferimento certificati accettabili nella pratica industriale. Viene esaminata la procedura di misura nel suo insieme, con l'inclusione delle operazioni di prelevamento del campione, dispersione del campione, trasporto del campione all'interno della zona di misura e le procedure di misura e di deconvoluzione. E' essenziale che la completa procedura operativa sia descritta in dettaglio.

Si raccomanda di utilizzare dei campioni o materiali di riferimento certificati, costituiti da particelle sferiche aventi una distribuzione granulometrica conosciuta entro un dato ordine di grandezze. Essi debbono essere calibrati in termini di distribuzione granulometrica in

percentuale di massa mediante una tecnica assoluta, se disponibile, ed utilizzata secondo una dettagliata procedura operativa approvata. Qualora per l'analisi dei dati si applica la teoria di Mie è essenziale indicare la parte reale ed immaginaria dell'indice di rifrazione complesso del materiale. La rappresentazione della distribuzione granulometrica in volume sarà equivalente a quella della distribuzione in massa a condizione che la densità delle particelle sia la stessa per tutte le frazioni granulometriche.

La risposta di uno strumento di diffrazione laser è considerata come conforme alle esigenze se il valore x_{50} medio ottenuto da almeno 3 misure indipendenti non devia per più del 3 per cento dall'intervallo dei valori certificati, per il campione o materiale di riferimento utilizzato, i.e. il valore medio e la sua deviazione standard. Per i valori medi di x_{10} e x_{90} , lo scarto massimo ammesso in rapporto all'intervallo dei valori certificati, è del 5 per cento. Al di sotto di 10 μm questi valori debbono essere raddoppiati.

Sebbene sia preferibile l'uso di materiali costituiti da particelle sferiche, si possono utilizzare anche particelle non sferiche. Al riguardo è preferibile che queste particelle siano caratterizzate da valori tipici o certificati ottenuti mediante diffrattometria laser effettuata secondo una procedura operativa dettagliata e approvata. L'uso di valori di riferimento ottenuti mediante metodi diversi dalla diffrazione laser possono causare significative distorsioni. Il motivo di tali distorsioni è connesso al fatto che i diversi principi inerenti a tali metodi possono portare ad ottenere dei diametri differenti, in sfere-equivalenti, per le stesse particelle non sferiche.

Oltre ai materiali di riferimento certificati sopra menzionati, possono essere usati anche dei campioni aventi una composizione ed una distribuzione granulometrica rappresentativa di una specifica classe di prodotti a condizione che la loro distribuzione granulometrica si sia dimostrata essere stabile nel tempo. In questi casi, i risultati ottenuti debbono essere conformi a dei dati precedentemente determinati con la stessa precisione e le stesse distorsioni come per il materiale di riferimento certificato.

Verifica del sistema. Oltre alla calibrazione è opportuno verificare le prestazioni della strumentazione ad intervalli di tempo regolari o con la necessaria frequenza. Tale verifica può essere effettuata con l'aiuto di tutto il materiale appropriato come riportato nel precedente paragrafo.

La verifica del sistema è basata sul concetto che l'attrezzatura, l'elettronica, i programmi di gestione e le operazioni analitiche costituiscono un sistema integrato valutabile come una unica entità. In tal modo viene esaminata l'intera procedura di misura incluse le operazioni di prele-

vamento del campione, dispersione del campione, trasporto del campione nella zona di misura e la procedura di misura e di deconvoluzione. E' essenziale che la completa procedura operativa sia descritta in dettaglio.

In genere, salvo indicazione contraria nella singola monografia, la risposta di uno strumento di diffrazione laser è considerata conforme alle esigenze se il valore x_{50} non devia per più del 10 per cento dall'intervallo dei valori certificati per il materiale di riferimento utilizzato, i.e. il valore medio e la sua deviazione standard. Se opzionalmente vengono valutati i valori ai bordi della distribuzione (e.g. x_{10} e x_{90}), allora questi valori non debbono deviare per più del 15 per cento dall'intervallo dei valori certificati. Al di sotto di 10 μm questi valori debbono essere raddoppiati.

2.9.32. POROSITÀ E DISTRIBUZIONE DELLA DIMENSIONE DEI PORI DEI SOLIDI MEDIANTE POROSIMETRIA A MERCURIO

INTRODUZIONE

I differenti tipi di pori possono in generale essere descritti come orifizi, canali o cavità in seno ad un corpo solido, o come spazi (interstizi o vuoti) tra particelle solide che costituiscono un letto, un compatto o aggregato. Il termine porosità, spesso usato per indicare la natura porosa di un materiale solido, è più precisamente definito come il rapporto tra il volume dei pori e dei vuoti accessibili ed il volume totale occupato da una data quantità di solido. Oltre ai pori accessibili, un solido può contenere dei pori chiusi che sono isolati dalla superficie esterna e nei quali i fluidi non sono in grado di penetrare. La caratterizzazione dei pori chiusi, cioè le cavità senza accesso alla superficie esterna, non sono prese in considerazione in questo capitolo.

I materiali porosi possono assumere la forma di polveri più o meno fini o grossolane, compattate, estruse, di fogli o monoliti. La caratterizzazione di questi materiali comprende in genere la determinazione del volume totale dei pori, o la porosità, come pure la distribuzione della dimensione dei pori.

Le prestazioni di un solido poroso (resistenza, reattività, permeabilità o potere assorbente) sono condizionate dalla sua struttura porosa. Sono stati sviluppati molti metodi per la caratterizzazione della struttura porosa. In considerazione della complessità della maggior parte dei solidi porosi non è sorprendente trovare che i risultati ottenuti mediante i diversi metodi non sono sempre in accordo. Un singolo metodo non è in grado di dare una descrizione completa della struttura porosa. La

scelta del metodo più appropriato dipende dall'applicazione del solido poroso, dalla sua natura chimica e fisica e dall'intervallo delle dimensioni dei pori.

Il presente capitolo fornisce indicazioni sulla misura della porosità e della distribuzione della dimensione dei pori mediante porosimetria a mercurio. Questo saggio comparativo, generalmente distruttivo, consiste nel determinare il volume di mercurio che penetra in un poro o in un vuoto in funzione della pressione idrostatica applicata, pressione che può essere correlata al diametro del poro. Dalle curve volume-pressione si possono egualmente dedurre altre informazioni sulla forma dei pori e loro interconnessione, sull'area superficiale interna ed esterna, sulla granulometria di una polvere, sulla densità di insieme e dopo compattamento; tuttavia questi aspetti non sono sempre trattati in questo capitolo. Per ragioni di ordine pratico la pressione assoluta applicabile con alcuni strumenti è attualmente limitata a valori massimi dell'ordine di 400 MPa, che corrispondono ad un diametro equivalente minimo dei pori di circa 0,003 μm . Il diametro massimo sarà limitato, nei casi di campioni che presentano uno spessore significativo, dalla differenza di pressione idrostatica esercitata dal mercurio dall'alto al basso del campione. Nella maggior parte dei casi, la stima di questo limite può essere di circa 400 μm .

La porosità inter ed intra particellare può essere determinata, ma il metodo qui descritto non permette di distinguere questi due tipi di porosità qualora coesistono.

Questo metodo è adatto allo studio di materiali altamente porosi. I campioni che formano amalgame con il mercurio, come alcuni metalli, possono essere non adatti a questa tecnica o possono richiedere una passivazione preliminare. Altri materiali possono deformarsi o compattarsi per effetto della pressione applicata. In alcuni casi è possibile applicare correzioni alla compressibilità del campione e ottenere così dei dati comparativi utili.

La porosimetria a mercurio deve essere considerata come una tecnica comparativa nella misura in cui, nella maggior parte dei mezzi porosi, non esiste una teoria che permetta il calcolo assoluto dei risultati della distribuzione della dimensione dei pori. Il suo impiego è di conseguenza raccomandato per studi di sviluppo.

Il mercurio è un composto tossico. E' dunque indispensabile rispettare le precauzioni d'uso per proteggere la salute dell'operatore e delle altre persone che lavorano nell'ambiente. Il materiale di scarto deve essere eliminato secondo modalità appropriate, conformi alle regolamentazioni locali in vigore.

Porosità e distribuzione della dimensione dei pori dei solidi mediante porosimetria a mercurio

TEORIA

La tecnica è basata sulla misura del volume di mercurio che penetra in un solido poroso in funzione della pressione applicata. La misura comprende solo quei pori nei quali il mercurio può penetrare alla pressione applicata.

Un liquido non bagnante penetra in un sistema poroso solamente sotto pressione. La pressione che deve essere applicata è in proporzione inversa al diametro interno dell'apertura dei pori. Nel caso di pori cilindrici, la correlazione tra il diametro del poro e la pressione è data dall'equazione di Washburn:

$$d_p = -\frac{4\sigma}{p} \cos\theta$$

d_p = diametro del poro in metri

σ = tensione superficiale, in newton per metro

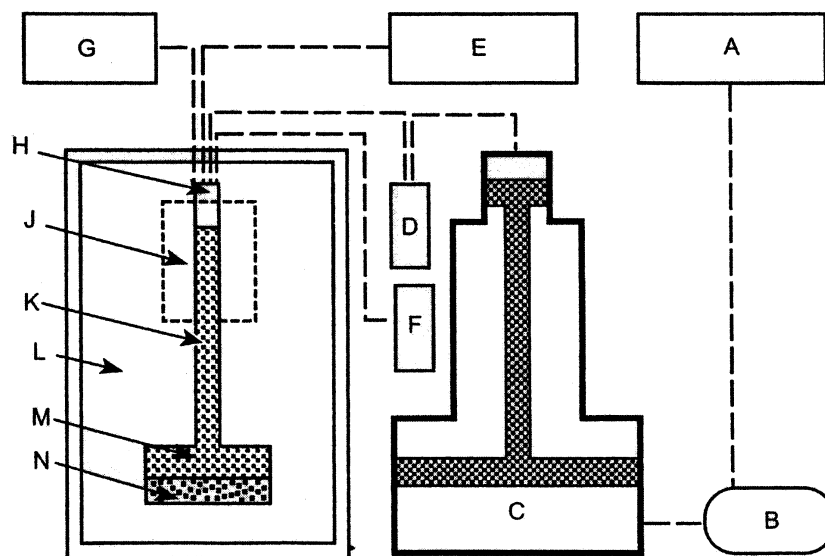
θ = angolo di contatto del mercurio nel campione, in gradi

p = pressione applicata, in pascal

APPARECCHIATURA

Il porta campione, definito come penetrometro o dilatometro, è munito di un capillare calibrato che permette la messa sotto vuoto del campione e l'introduzione del mercurio. Il capillare è inserito in un capillare più ampio in cui è posizionato il campione da esaminare. La variazione del volume di mercurio risultante dall'intrusione è generalmente misurata mediante il cambiamento nella capacità tra la colonna di mercurio contenuto nel capillare ed un manicotto metallico intorno alla parte esterna del capillare. Se vengono richieste misure precise il volume totale presunto dei vuoti e dei pori del campione dovrebbe essere tra il 20 ed il 90 per cento del volume interno del capillare. Tenuto conto della diversità dei valori di porosità dei solidi, può essere necessario utilizzare più penetrometri che si differenziano per il diametro del capillare ed il volume del campione. La figura 2.9.32.-1. rappresenta lo schema tipo di un porosimetro a mercurio. Il porosimetro può essere composto da parti separate per le operazioni ad alta o bassa pressione; le misure a bassa pressione possono essere ugualmente effettuate su unità separate.

Il divario di pressione è generalmente di 4–300 kPa per le operazioni a bassa pressione e superiore a 300 kPa per le operazioni ad alta pressione, secondo la configurazione dell'apparecchio e l'uso atteso.



- | | | | |
|---|-------------------------------|---|------------|
| A Riserva di fluido idraulico a bassa pressione | E Riserva di fluido idraulico | J Indicatore del volume di penetrazione | N Campione |
| B Pompa idraulica | F Pompa a vuoto con manometro | K Tubo capillare | |
| C Moltiplicatore di pressione | G Riserva di mercurio | L Camera ad alta pressione | |
| D Transduttore di pressione | H Olio | M Mercurio | |

Figura 2.9.32.-1. Esempio di montaggio di un porosimetro a mercurio

METODO

Preparazione del campione

Il campione è pretrattato per eliminare il materiale adsorbito che potrebbe mascherare la sua porosità accessibile. A tal fine si può procedere per esempio ad un riscaldamento oppure sottoporre a vuoto o ad un flusso di gas inerte. È possibile inattivare la superficie di solidi bagnabili o che formino amalgame, producendo uno sottile strato di ossido o per rivestimento con stearato.

Il campione del solido pretrattato è pesato e trasferito nel penetrometro. Il sistema poroso del campione è quindi degassato con un vuoto alla pressione massima residua di 7 Pa.

Riempimento del penetrometro con mercurio

Il mercurio usato è puro per analisi. Il campione viene ricoperto con mercurio sotto vuoto. Il vuoto è necessario per assicurare il trasferimento del mercurio dalla riserva nel penetrometro. In un penetrometro riempito, la pressione di riempimento comprende la pressione applicata più il contributo di pressione generato dall'altezza di mercurio a contatto con il campione. Una pressione di riempimento tipica dovrebbe essere di circa 4 kPa. La pressione idrostatica del mercurio sul campione può essere minimizzata riempiendo il penetrometro in posizione orizzontale.

Misura a bassa pressione

Per questa misura viene immessa aria o azoto in maniera controllata al fine di aumentare la pressione sia in più stadi corrispondenti alle dimensioni dei pori che interessano, o in modo continuo a bassa velocità. Registrare la variazione concomitante della lunghezza della colonna di mercurio nel capillare. Quando la pressione massima richiesta è raggiunta si torna alla pressione atmosferica

Misura ad alta pressione

Dopo la misura a bassa pressione, il penetrometro riempito con il mercurio viene trasferito all'apertura o unità dell'apparecchio destinato alle pressioni elevate e ricoperto con il fluido idraulico. L'intrusione del mercurio nel sistema di pori si ottiene con l'intermediazione del fluido idraulico. Aumentare la pressione nel sistema fino alla massima pressione raggiunta nella misura a bassa pressione e registrare il volume d'intrusione a questa pressione; i successivi volumi di intrusione vengono calcolati da questo volume iniziale. Aumentare di nuovo la pressione sia in più stadi corrispondenti alle dimensioni dei pori che interessano, o in modo continuo a bassa velocità. L'abbassamento della colonna del mercurio viene misurato fino alla pressione massima richiesta. Se

richiesto la pressione può essere diminuita sia a tappe che in modo continuo e lentamente per determinare la curva di estrusione del mercurio.

Vengono fatte delle correzioni per tener conto degli effetti delle pressioni elevate sul volume del mercurio, sul penetrometro e sugli altri componenti del sistema di rivelazione del volume. L'entità delle correzioni può essere determinata mediante misure in bianco eseguite nelle stesse condizioni. Una curva volume-pressione, determinata sperimentalmente, è riportata nella Figura 2.9.32.-2.

RISULTATI

Le letture della pressione possono essere trasformate nei diametri dei pori mediante l'equazione di Washburn o mediante un altro modello.

La tensione superficiale del mercurio (σ) dipende non solo dalla temperatura, ma anche, nel caso di aree superficiali marcatamente curve, dal raggio di curvatura. In generale, valori compresi tra $0,41 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$ e $0,52 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$ sono determinati a temperatura ambiente. Se il valore di σ non è noto si può usare un valore uguale a $0,48 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$. L'angolo di contatto (θ) del mercurio, nella maggior parte dei casi, è superiore a 90° . Può essere determinato usando uno strumento di misura dell'angolo di contatto. Se il valore di θ non è noto può essere usato $\theta = 130^\circ$. Vengono riportati il valore dell'angolo di contatto, la tensione superficiale ed il modello usato nel calcolo.

La visualizzazione dei dati può essere fatta con diversi tipi di grafici. Spesso in una rappresentazione grafica il diametro del poro è riportato in ascissa ed il volume di intrusione per unità di massa del campione sulle ordinate al fine di dare la distribuzione della dimensione dei pori. Qui è appropriato scegliere una scala logaritmica per l'ascissa. (vedi fig. 2.9.32.-3.). Gli spazi tra le particelle del campione solido sono inclusi nel calcolo come pori. Se i pori differiscono nella dimensione dai vuoti, questi ultimi possono essere separati scegliendo una appropriata gamma di dimensioni dei pori. Le curve di estrusione non possono essere usate per calcolare la distribuzione delle dimensioni dei pori (vedi il ciclo di isteresi in figura 2.9.32.-2.) perché una parte del mercurio rimane intrusa nel sistema. Il rapporto di ritenzione può tuttavia essere utile per il riconoscimento qualitativo dei pori che sono accessibili solo attraverso una stretta apertura.

I valori caratteristici più comuni, come il volume specifico di intrusione totale ed i diametri medi e mediani dei pori, vengono calcolati dalla distribuzione della dimensione dei pori. Inoltre devono essere documentate sufficienti informazioni circa il campione, la preparazione del campione, le condizioni di evacuazione e lo strumento usato.

CONTROLLO DELLE PRESTAZIONI DELLO STRUMENTO

La porosimetria a mercurio deve essere considerata come un saggio comparativo e pertanto, in questo capitolo, non viene fatta una presentazione dettagliata. Si raccomanda comunque di esaminare periodicamente un materiale di riferimento stabile per verificare la calibrazione e le prestazioni dello strumento.

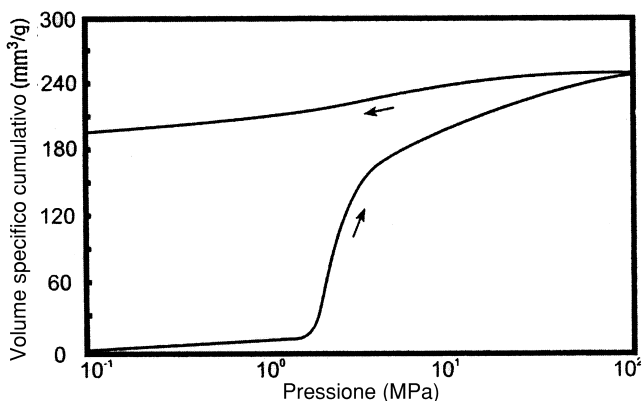


Figura 2.9.32.-2. Curva volume-p pressione in coordinate semilogaritmiche.

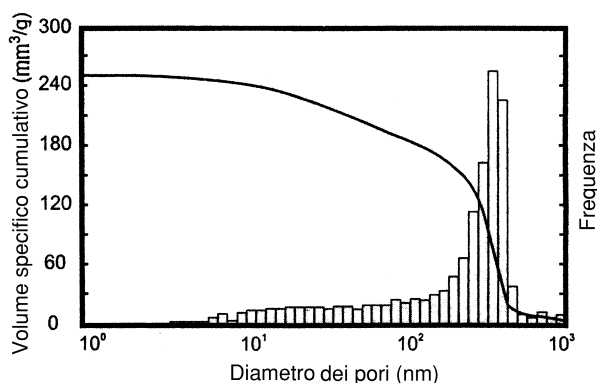


Figura 2.9.32.-3. Distribuzione delle dimensioni dei pori in grafico semilogaritmico della distribuzione di densità cumulativa e normalizzata.

2.9.33. CARATTERIZZAZIONE DEI SOLIDI CRISTALLINI E PARZIALMENTE CRISTALLINI MEDIANTE DIFFRAZIONE DI RAGGI X SU POLVERE (XRPD)

Ogni fase cristallina presente in una data sostanza diffrange i raggi X in modo indipendente, producendo un diffrattogramma caratteristico.

I diffrattogrammi (chiamati anche diagrammi o spettri di diffrazione) sono ottenuti a partire da polveri cristalline, composte da cristalliti o da frammenti di cristalli di dimensione finita che presentano un orientamento casuale. Il diffrattogramma di una polvere fornisce, essenzialmente, tre tipi di informazione: la posizione

angolare delle righe di diffrazione (che dipende dalla geometria e dalle dimensioni della cella unitaria); l'intensità delle righe di diffrazione (che dipende principalmente dalla natura e dalla disposizione degli atomi e dall'orientamento dei cristalliti all'interno del campione); la forma delle righe di diffrazione (che è funzione della risoluzione dello strumento, delle dimensioni dei cristalliti, della tensione interna e dello spessore del campione).

Lo studio della posizione angolare e dell'intensità delle righe di diffrazione può servire per applicazioni quali l'analisi qualitativa (per esempio, l'identificazione) e quantitativa delle fasi di un materiale cristallino. Si può effettuare anche una valutazione dell'ammontare relativo di fasi amorphe e cristalline presenti nel campione.⁽¹⁾

La diffrazione di raggi X su polveri (XRPD) presenta, rispetto agli altri metodi di analisi, il vantaggio di essere, in genere, non distruttiva (la preparazione del campione si limita, di solito, ad una macinazione per garantire un campione composto da cristalliti orientati casualmente). Gli studi XRPD possono anche essere condotti *in situ* su campioni esposti a condizioni ambientali caratterizzate, ad esempio, da umidità e temperature alte o basse.

PRINCIPIO

La diffrazione dei raggi X è il risultato della interazione tra i raggi X e le nubi elettroniche degli atomi. In funzione della posizione degli atomi si generano interferenze tra i raggi X diffratti. Queste interferenze sono costruttive se la differenza di cammino tra due raggi X diffratti è un multiplo intero della loro lunghezza d'onda. Questa condizione selettiva è descritta dall'equazione di Bragg chiamata anche legge di Bragg (vedi Figura 2.9.33.-1)

$$2d_{hkl}\sin\theta_{hkl} = n\lambda$$

La lunghezza d'onda λ dei raggi X è dello stesso ordine di grandezza della distanza d_{hkl} che separa due piani successivi del reticolo cristallino (detta anche 'd-spacing'); θ_{hkl} è l'angolo di incidenza del fascio di raggi X sulla famiglia di piani reticolari e $\sin\theta_{hkl}$ è inversamente proporzionale alla distanza tra successivi piani reticolari o d-spacing. L'orientamento e la distanza tra i piani in relazione agli assi della cella elementare sono definiti dagli indici di Miller $\{hkl\}$. Questi indici sono i reciproci, ridotti all'intero immediatamente inferiore, delle intersezioni di un piano con gli assi della cella elementare. Le dimensioni della cella elementare sono date dalle distanze a , b e c sugli assi e dagli angoli α , β e γ formati dagli assi stessi.

(1) Esistono numerose altre applicazioni della diffrattometria dei raggi X su polveri che possono essere utilizzate per le sostanze farmaceutiche cristalline come: determinazione delle strutture cristalline, raffinamento della struttura cristallina, determinazione della purezza cristallografica delle fasi cristalline, caratterizzazione della tessitura cristallografica, ecc. Queste applicazioni non vengono descritte in questo capitolo.

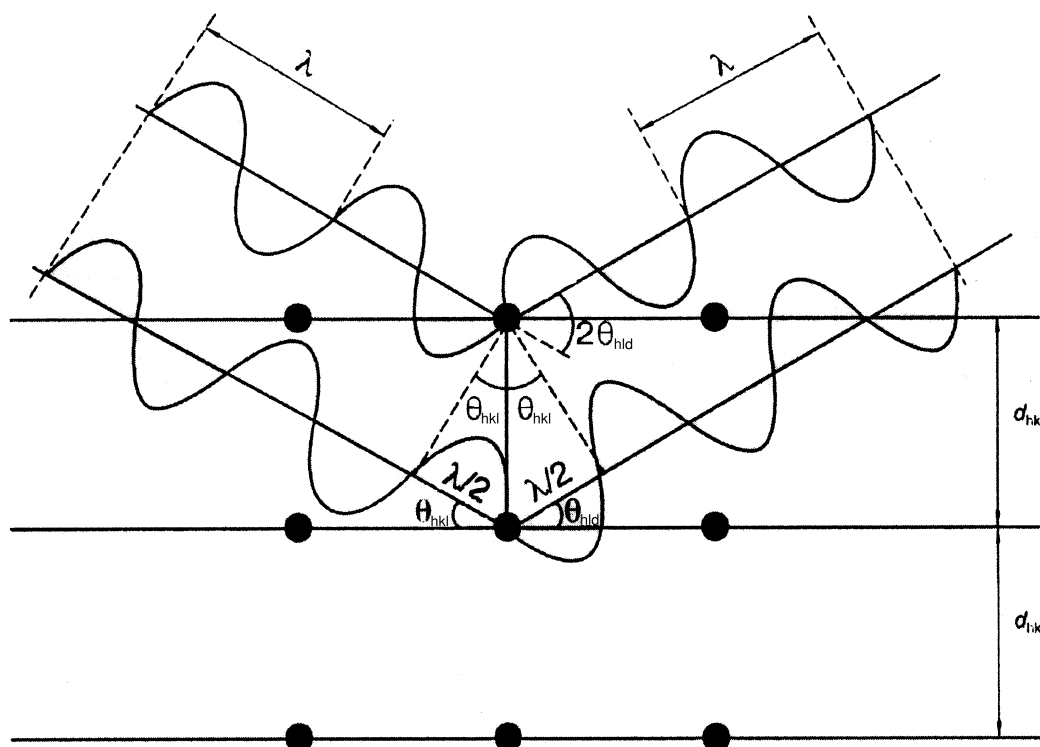


Figura 2.9.33.-1. Diffrazione dei raggi X in un cristallo secondo la legge di Bragg

La distanza tra i singoli elementi di una famiglia di piani paralleli hkl è indicata da d_{hkl} . Ogni famiglia di piani così identificata può presentare ordini di diffrazione più alti dove i valori d , associati alle famiglie di piani nh , nk , nl , sono diminuiti di un fattore $1/n$ (essendo n un numero intero: 2, 3, 4, ecc.)

A ciascuna famiglia di piani presente in un cristallo è associato, in accordo con la relazione di Bragg, un angolo di diffrazione specifico θ_{hkl} (per una specifica lunghezza d'onda γ).

Si assume che un campione di polvere sia policristallino cosicché, per ogni angolo θ_{hkl} ci sono sempre cristalliti orientati in modo da permettere la diffrazione secondo la legge di Bragg.⁽²⁾ Per una data lunghezza d'onda dei raggi X le posizioni dei differenti picchi di diffrazione (indicati anche come 'righe', 'riflessioni' o 'riflessioni di Bragg') sono caratteristiche del reticolo cristallino ('d-spacings'), le loro intensità teoriche dipendono dal contenuto della cella elementare cristallografica (natura e posizione degli atomi) e i profili delle righe dipendono dal grado di perfezione ed estensione del reticolo cristallino. In queste condizioni il picco di dif-

frazione presenta una intensità finita che è la risultante della disposizione degli atomi, del tipo di atomi, del moto termico, delle imperfezioni strutturali oltre che delle caratteristiche dello strumento.

L'intensità è dipendente da molti fattori quale il fattore struttura, il fattore temperatura, la cristallinità, il fattore polarizzazione, la molteplicità ed il fattore Lorentz.

I principali parametri che caratterizzano le righe di diffrazione sono la posizione 2θ , l'altezza del picco, l'area del picco e la forma del picco (contraddistinta, ad esempio, dalla ampiezza o dalla asimmetria del picco, da una funzione analitica o da una rappresentazione empirica). Come esempio, in figura 2.9.33.-2, sono riportati i diffrattogrammi ottenuti da 5 fasi solide diverse della stessa sostanza.

Oltre ai picchi di diffrazione, un esperimento di diffrazione di raggi X genera un rumore di fondo più o meno uniforme, sul quale si sovrappongono i picchi. A questo rumore di fondo, oltre alla preparazione del campione, contribuiscono altri fattori come il porta-campioni, la diffusione dei raggi X dovuta all'aria ed alla apparecchiatura, ed altri parametri strumentali quali il rumore del rivelatore, la radiazione bianca del tubo a raggi X, ecc. Il rapporto in intensità tra picco e rumore di fondo può essere aumentato minimizzando il rumore di fondo ed operando con tempi di esposizione più lunghi.

(2) La 'polvere ideale' per uno studio di diffrazione è composta da un gran numero di piccoli cristalliti sferici orientati casualmente (domini cristallini diffrangenti in modo coerente). Se il loro numero è grande a sufficienza ci saranno sempre abbastanza cristalliti con orientazione casuale che permetteranno di ottenere un diffrattogramma riproducibile.

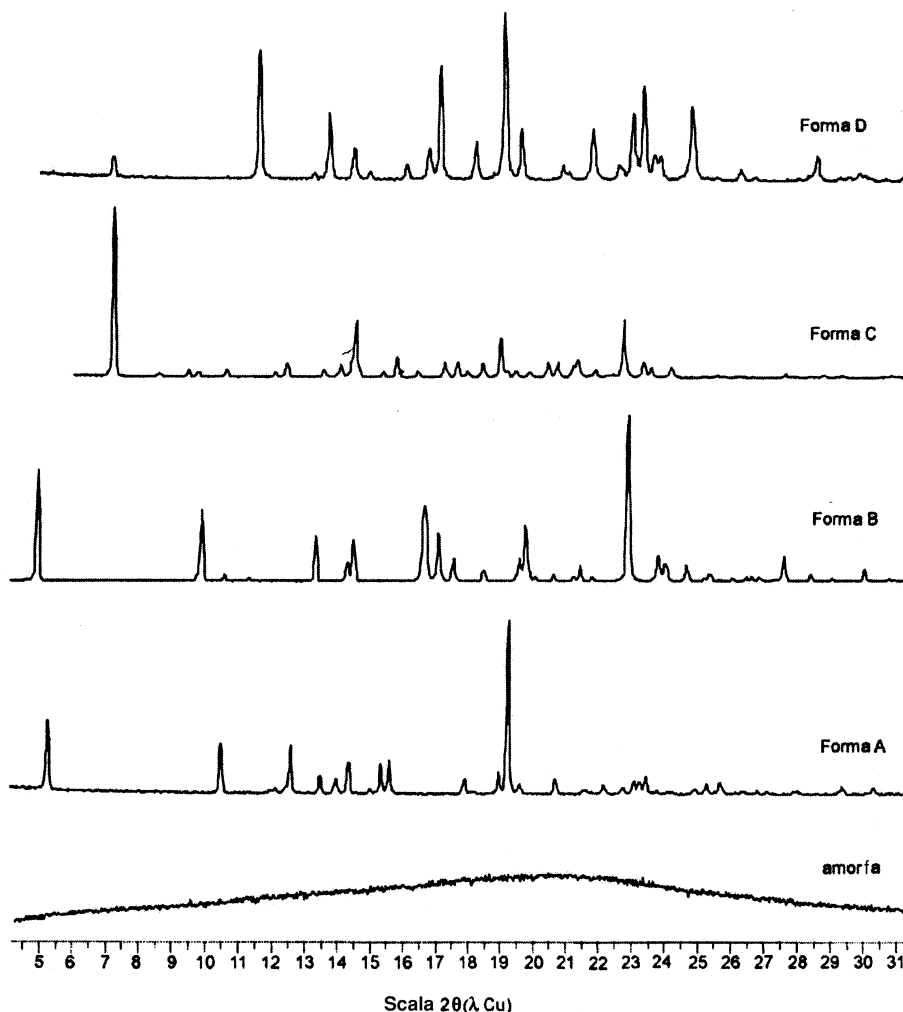


Figura 2.9.33.-2. *Diffratogrammi X ottenuti con 5 fasi solide diverse della stessa sostanza (intensità normalizzata)*

STRUMENTAZIONE

Allestimento dell'apparecchio. Gli esperimenti di diffrazione di raggi X vengono eseguiti, generalmente, utilizzando diffrattometri per polveri o fotocamere per diffrazione di polveri.

Un diffrattometro per polveri generalmente comprende 5 parti principali: una sorgente di raggi X; gli elementi ottici che agiscono sul fascio incidente per renderlo monocromatico, filtrarlo, collimarlo e/o focalizzarlo; un goniometro; gli elementi ottici che agiscono sul fascio diffratto per renderlo monocromatico, filtrarlo, collimarlo e focalizzarlo o renderlo parallelo; ed un rivelatore. Sono ugualmente necessari dei sistemi di acquisizione ed elaborazione dei dati che sono normalmente compresi nei moderni apparecchi per la misura di diffrazione.

Il tipo di analisi che deve essere eseguita (identificazione delle fasi, analisi quantitativa, determinazione dei parametri del reticolo, ecc.) condiziona la configurazione dello strumento ed il livello di prestazione richiesto. Lo strumento più semplice che permette di registrare dei diffrattogrammi di polveri è la fotocamera per diffrazione di polveri. La sostituzione della pellicola fotografica con dei rivelatori di fotoni come detectors, ha portato allo sviluppo di diffrattometri in cui la geometria degli elementi ottici non è più a focalizzazione propriamente detta ma a para-focalizzazione, come nella geometria di Bragg-Brentano. La configurazione nella para-focalizzazione di Bragg-Brentano, attualmente la più utilizzata, viene qui descritta in breve.

Un dato strumento può essere impiegato sia in geometria $\theta/2\theta$ orizzontale o verticale, sia in geometria θ/θ verticale. In entrambe le geometrie, il fascio di raggi X incidente forma un angolo θ con la superficie piana del

Lo spettro emesso da un tubo a raggi X che opera ad una differenza di potenziale sufficiente, è formato da un fondo continuo di radiazione policromatica al quale si aggiunge una radiazione caratteristica che dipende dal tipo di anodo. Solamente questa radiazione caratteristica viene utilizzata negli esperimenti di diffrazione di raggi X. Le sorgenti più comunemente impiegate in diffrattometria X sono i tubi a vuoto ad anodo di rame, molibdeno, ferro, cobalto o cromo; i raggi X del rame, molibdeno o cobalto sono i più utilizzati per le sostanze organiche (si preferisce l'uso di anodi di cobalto specialmente per separare le diverse linee di diffrazione). La scelta della radiazione da impiegare dipende dalle proprietà di assorbimento del campione e da una eventuale emissione di fluorescenza dagli atomi contenuti nel campione. La lunghezza d'onda impiegata in diffrattometria di polveri corrisponde, generalmente, alla radiazione K_{α} emessa dall'anodo. Di conseguenza è vantaggioso rendere «monocromatico» il fascio di raggi X eliminando tutte le altre componenti dello spettro di emissione. Questa operazione può essere ottenuta, parzialmente, utilizzando filtri K_{β} che sono filtri metallici con una soglia di assorbimento compresa tra le lunghezze d'onda K_{α} e K_{β} emesse dal tubo.

Tale filtro è inserito, generalmente, tra il tubo a raggi X ed il campione. Un altro modo, sempre più impiegato, per ottenere un fascio monocromatico di raggi X è quello di utilizzare un grande cristallo monocromatore (comunemente detto 'monocromatore'). Questo cristallo, posto davanti o dietro il campione, diffrange i differenti picchi caratteristici del fascio di raggi X (cioè K_{α} e K_{β}) secondo angoli diversi, cosicché uno solo di essi può essere selezionato per entrare nel rivelatore. È anche possibile separare le radiazioni $K_{\alpha 1}$ e $K_{\alpha 2}$ impiegando un monocromatore specifico. Sfortunatamente, il guadagno ottenuto nell'ottenere un fascio monocromatico per mezzo di un filtro o di un monocromatore è controbilanciato da una perdita di intensità. Un altro modo per separare le lunghezze d'onda K_{α} e K_{β} consiste nell'impiegare specchi curvi per raggi X che possano, contemporaneamente, rendere monocromatico e focalizzare o collimare il fascio di raggi X.

PROTEZIONE DALLE RADIAZIONI: l'esposizione di qualunque parte del corpo umano ai raggi X, costituisce un rischio per la salute. È quindi essenziale, quando si impiega una apparecchiatura a raggi X, prendere adeguate precauzioni per garantire la protezione dell'operatore e di tutte le persone che si trovano nelle vicinanze. Le procedure raccomandate per garantire questa protezione, come i livelli massimi ammissibili di esposizione ai raggi X sono fissate dalla legislazione nazionale di ciascun paese. In assenza, in un paese, di regolamentazioni ufficiali, si debbono applicare le più recenti raccomandazioni della Commissione Internazionale sulla Protezione Radiologica.

PREPARAZIONE E MONTAGGIO DEL CAMPIONE

La preparazione del materiale in polvere ed il suo montaggio in un adatto portacampioni costituisce un passaggio critico per molti metodi di analisi e lo è, in modo particolare, per la diffrattometria a raggi X su polveri, perché può influenzare grandemente la qualità dei dati raccolti⁽³⁾. Le principali sorgenti di errore associate alla preparazione e al montaggio del campione per strumenti che operano nella geometria di para-focalizzazione di Bragg-Brentano, sono qui brevemente discusse.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

In generale, la morfologia di molte particelle cristalline tende a dar luogo ad un campione che mostra un certo grado di orientamento preferenziale nel portacampioni. Questo è particolarmente evidente nei cristalli aciculari o piatti quando la riduzione delle dimensioni produce aghetti o piastrine più piccole. L'orientamento preferenziale all'interno del campione influenza l'intensità dei differenti riflessi cosicché alcuni sono più intensi ed altri meno intensi rispetto a ciò che ci si aspetterebbe da un campione con disposizioni completamente casuali dei cristalli (senza orientamenti preferenziali). Si possono impiegare molte tecniche per migliorare il carattere casuale dell'orientamento dei cristalliti (e, quindi, minimizzare l'orientamento preferenziale), ma, spesso, il migliore e più semplice approccio consiste nella ulteriore riduzione della dimensione delle particelle. Il numero ottimale di cristalliti dipende dalla geometria del diffrattometro, dalla risoluzione richiesta e dall'attenuazione del fascio di raggi X causata dall'attraversamento del campione. In alcuni casi, particelle di dimensione rilevante (possono arrivare fino a 50 μm) forniranno risultati soddisfacenti nell'identificazione delle fasi. Comunque, l'eccessiva macinazione (cristalliti di dimensioni inferiori a 0,5 μm) può causare allargamento delle righe e cambiamenti significativi allo stesso campione quali, ad esempio:

- contaminazione del campione con particelle erose dagli strumenti di macinazione (mortaio, pestello, sfere, ecc.);
- riduzione del grado di cristallinità;
- transizione allo stato solido con formazione di un altro polimorfo;
- decomposizione chimica;
- introduzione di stress interni;
- reazioni allo stato solido.

(3) Similmente, se il campione non è in equilibrio (nei confronti delle temperature ed umidità), possono intervenire cambiamenti nel campione durante l'acquisizione dei dati

È, quindi, raccomandabile confrontare il diffrattogramma del campione non macinato con quello di un campione contenente particelle di dimensioni inferiori (per esempio un campione macinato). Se il diffrattogramma ottenuto è di qualità adeguata per l'uso previsto, può essere inutile procedere alla macinazione.

Bisogna notare che se il campione contiene più di una fase e se si impiega la setacciatura per isolare particelle di una determinata dimensione, la composizione iniziale può risultare alterata.

MONTAGGIO DEL CAMPIONE

Effetto dello spostamento del campione. Se la superficie del campione non si trova in corrispondenza dell'asse di rotazione del diffrattometro, ma presenta un "offset" pari a D rispetto ad esso, si hanno errori sistematici che è molto difficile evitare completamente; in modalità di riflessione ciò si traduce in spostamenti assoluti $D \cos\theta^{(4)}$ nelle posizioni 2θ (tipicamente dell'ordine di $0,01^\circ$ agli angoli bassi ($\cos\theta \simeq 1$) per un "offset" $D = 15 \mu\text{m}$) ed in un allargamento asimmetrico del profilo verso valori 2θ bassi. L'uso di uno standard interno appropriato permette di rilevare e correggere questi effetti contemporaneamente a quello dovuto alla trasparenza del campione. Quando il diffrattometro è correttamente allineato, queste sono di gran lunga le più importanti sorgenti di errore.

Effetti dello spessore e della trasparenza del campione. Quando si impiega la diffrattometria X su polvere in modalità di riflessione, è spesso preferibile lavorare su campioni di 'spessore infinito'.

Per minimizzare l'effetto trasparenza è consigliabile utilizzare un supporto non diffrangente (un supporto a rumore di fondo zero), per esempio una lamina di silicio monocristallino tagliata parallelamente ai piani reticolari $5\ 1\ 0^{(5)}$. Uno dei vantaggi di operare con la geometria in trasmissione è la minore importanza dei problemi legati allo spessore ed alla trasparenza del campione.

L'impiego di un appropriato standard interno permette di rilevare e correggere questo effetto contemporaneamente a quello che deriva dallo spostamento del campione.

(4) Si noti che un disallineamento dello zero del goniometro introdurrebbe uno spostamento costante di tutte le posizioni 2θ delle linee di diffrazione, in altre parole l'intero diffrattogramma in questo caso sarebbe traslato di un "offset" Z° in 2θ .

(5) Nel caso di un campione sottile con piccola attenuazione è possibile una misura accurata della posizione delle righe attraverso un diffrattometro a focalizzazione, sia con la geometria in trasmissione che con quella in riflessione. Misure accurate della posizione delle righe di campioni con piccola attenuazione sono ottenute, preferibilmente, impiegando diffrattometri con ottiche a fasci paralleli. Questo aiuta a ridurre gli effetti dello spessore del campione.

CONTROLLO DEL FUNZIONAMENTO DELLO STRUMENTO

I goniometri e le corrispondenti ottiche relative al fascio incidente e al fascio diffratto comprendono numerose parti meccaniche che necessitano di essere regolate. Il grado di allineamento e disallineamento influenza direttamente la qualità dei risultati di una analisi diffrattometrica. Quindi, è essenziale procedere ad una accurata regolazione dei differenti elementi che compongono il diffrattometro (elementi ottici, meccanici, ecc.) per minimizzare adeguatamente gli errori sistematici mentre, al tempo stesso, si ottimizzano le intensità ricevute del rivelatore. Quando si allinea un diffrattometro, la ricerca della massima intensità e quella della massima risoluzione sono antagoniste. Occorre quindi, mentre si esegue la procedura di allineamento, cercare il miglior compromesso tra le due. Esistono numerose possibili configurazioni e ciascun apparecchio richiede specifiche procedure di allineamento.

Il buon funzionamento globale del diffrattometro deve, poi, essere controllato e verificato periodicamente per mezzo di adeguati materiali di riferimento certificati. A seconda del tipo di analisi possono essere utilizzati altri ben definiti materiali di riferimento sebbene sia preferibile l'uso di materiali di riferimento certificati.

ANALISI QUALITATIVA DELLE FASI (IDENTIFICAZIONE DELLE FASI)

L'identificazione, per diffrattometria X su polvere, delle fasi presenti in un campione incognito è basato generalmente sul confronto, visivo o assistito da un computer, di una porzione del diffrattogramma ottenuto con quello (sperimentale o calcolato) di un materiale di riferimento. Nel caso ideale è desiderabile che questo diffrattogramma di riferimento sia ottenuto a partire da campioni monofasici ben caratterizzati. Questo approccio, nella maggior parte dei casi, permette di identificare una sostanza cristallina dai suoi angoli di diffrazione 2θ o dalle distanze reticolari e dalle sue intensità relative. Il confronto, effettuato attraverso il computer, del diffrattogramma del campione sconosciuto con i dati ottenuti dal riferimento, può essere basato sia su un intervallo 2θ più o meno esteso del diffrattogramma complessivo, sia su un gruppo ridotto di dati ricavati dal diffrattogramma.

Per esempio, l'elenco delle distanze interreticolari e delle intensità normalizzate I_{norm} , un cosiddetto «elenco (d, I_{norm})» estratto dal diffrattogramma, costituisce la 'impronta digitale' cristallografica del prodotto e può essere paragonato con gli elenchi (d, I_{norm}) di campioni monofasici raccolti in un database.

Per la maggior parte dei cristalli organici, quando si utilizza la radiazione $\text{CuK}\alpha$, è appropriato registrare il diffrattogramma in un intervallo 2θ che va da un valore il più possibile vicino a 0° fino ad almeno 40° . Il grado di concordanza per gli angoli di diffrazione 2θ tra il campione ed il materiale di riferimento, è di non più di $0,2^\circ$ per la stessa forma cristallina, mentre, tra il campione ed il materiale di riferimento, possono variare considerevolmente le intensità relative, per gli effetti dovuti all'orientamento preferenziale. È noto che gli idrati ed i solvati variabili hanno, per loro propria natura, dimensioni della cella unitaria che cambiano e ciò da luogo a spostamenti nella posizione dei picchi dei loro diffrattogrammi X. Per questi unici materiali non ci si aspetta una variazione nelle posizioni 2θ maggiori di $0,2^\circ$. Di conseguenza per questi materiali non sono applicabili variazioni come $0,2^\circ$. Per altri tipi di campioni (per esempio i sali inorganici) può essere necessario estendere la regione 2θ esplorata ben oltre i 40° . Generalmente, è sufficiente confrontare i dieci riflessi più intensi identificati attraverso un database di dati di diffrazione di polveri monofasiche.

È talvolta difficile, o persino impossibile, identificare le fasi nei seguenti casi:

- sostanze non cristallizzate o amorfe,
- la massa dei componenti da identificare è una percentuale troppo piccola della massa totale dell'analisi (in genere meno del 10 per cento m/m),
- marcati effetti di orientamento preferenziale,
- assenza della fase da identificare nel database utilizzato,
- formazione di soluzioni solide,
- presenza di disordini strutturali che alterano la cella unitaria,
- presenza, nel campione, di troppe fasi,
- presenza di deformazioni nel reticolo cristallino,
- somiglianza strutturale di fasi diverse.

ANALISI QUANTITATIVA DELLE FASI

Se il campione investigato è una miscela di due o più fasi note di cui non più di una è amorfa, si può, in molti casi determinare la percentuale (in volume o in massa) di ciascuna fase cristallina e della fase amorfa. L'analisi quantitativa di fase può essere basata sull'integrazione delle intensità, sulle altezze dei picchi di diverse righe di diffrazione individuali⁽⁶⁾, o sull'intero diffrattogramma. Queste intensità integrate, altezze dei picchi

(6) Se la struttura cristallina di tutti i componenti è nota, il metodo di Rietveld può essere usato per quantificare il loro ammontare nel campione con una buona accuratezza. Se le strutture cristalline dei componenti non sono note, si possono utilizzare il metodo di Pawley o il metodo dei minimi quadrati.

o punti del diffrattogramma sono confrontati con i corrispondenti valori del materiale di riferimento. Questi materiali di riferimento possono essere sostanze monofasiche o miscele di fasi di composizione nota. Le difficoltà riscontrate nell'analisi quantitativa sono legate alla preparazione del campione (l'accuratezza e la precisione dei risultati richiedono, in particolare, l'omogeneità di tutte le fasi ed una adatta distribuzione granulometrica in ogni fase) ed ad effetti di matrice. Nei casi favorevoli, quantità di fasi cristalline dell'ordine del 10 per cento possono essere determinate nelle matrici solide.

CAMPIONI POLIMORFI

Per un campione composto da due fasi polimorfe a e b , la seguente espressione può essere usata per quantificare la frazione F_a della fase a :

$$F_a = \frac{1}{1 + K(I_b/I_a)}$$

La frazione, conoscendo il valore della costante K , è ottenuta misurando il rapporto delle intensità delle due fasi. K è il rapporto I_{oa}/I_{ob} delle intensità assolute delle due fasi polimorfe pure. Il suo valore può essere determinato da misure effettuate su campioni di riferimento.

METODI CHE UTILIZZANO UNO STANDARD

I metodi più comunemente impiegati per l'analisi quantitativa sono:

- il 'metodo dello standard esterno',
- il 'metodo dello standard interno',
- il 'metodo delle aggiunte standard' ('spiking method').

Il 'metodo dello standard esterno' è il metodo più generale e consiste nel paragonare il diffrattogramma X della miscela, o le corrispondenti intensità delle righe, con il diffrattogramma o le righe misurate per una miscela di riferimento o con le intensità teoriche ricavate da un modello strutturale, se tale modello è noto.

Per limitare gli errori dovuti agli effetti di matrice, si può impiegare un materiale di riferimento interno, con dimensione dei cristalliti e coefficiente di assorbimento dei raggi X paragonabile a quello dei componenti del campione e con un diffrattogramma che non interferisce in nessun punto con quello della sostanza da analizzare. Una quantità nota di questo materiale di riferimento viene aggiunto al campione da analizzare ed a ciascuna delle miscele di riferimento. In queste condizioni esiste una relazione lineare tra l'intensità delle righe e la concentrazione.

Questo metodo 'dello standard interno' richiede una misura precisa delle intensità diffratte.

Nel metodo 'delle aggiunte standard', una data quantità della fase a pura viene aggiunta alla miscela contenente una concentrazione sconosciuta di a . Vengono quindi effettuate delle aggiunte multiple per preparare una curva delle intensità in funzione della concentrazione; l'intercetta di questa curva con l'asse negativo delle x rappresenta la concentrazione della fase a nel campione di origine.

STIMA DELLE FRAZIONI AMORFE E CRISTALLINE

In una miscela di fasi cristalline e amorfe, la frazione di ciascuna fase può essere valutata in molti modi. La scelta del metodo dipende dalla natura del campione:

- se il campione è composto da frazioni cristalline e da una frazione amorfa con composizioni chimiche differenti, la quantità di ciascuna delle fasi cristalline può essere valutata impiegando sostanze di riferimento adatte, come descritto precedentemente; la frazione amorfa è allora deducibile, indirettamente, per sottrazione;
- se il campione è composto da una frazione cristallina e da una frazione amorfa, in miscela monofasica o bifasica, aventi la stessa composizione elementare, la quantità di fase cristallina (o 'grado di cristallinità') può essere valutata misurando, sul diffrattogramma, tre aree:

A = area totale dei picchi risultante dalla diffrazione dovuta alla frazione cristallina del campione,

B = area totale sotto l'area A

C = area corrispondente al rumore di fondo (dovuto alla diffusione da parte dell'aria, fluorescenza, attrezzatura, ecc.)

Una volta misurate queste aree, il grado di cristallinità può essere valutato, approssimativamente, utilizzando la seguente formula

$$\% \text{ di cristallinità} = 100 A / (A + B - C)$$

È degno di nota che questo metodo non fornisce valori assoluti di cristallinità ed è perciò usato, generalmente, solo a scopo comparativo.

Sono disponibili anche metodi più sofisticati, come il metodo di Ruland.

STRUTTURE DEI MONOCRISTALLI

In generale la determinazione delle strutture cristalline si effettua a partire da dati di diffrazione X ottenuti su dei monocristalli. Tuttavia l'analisi strutturale dei cri-

stalli organici è un'impresa ardua in quanto i parametri reticolari sono comparativamente larghi, la simmetria è bassa e le proprietà di diffrazione normalmente molto limitate.

Per ogni data forma cristallina di una sostanza, la conoscenza della struttura cristallina permette di calcolare il corrispondente diffrattogramma X e di stabilire con un diffrattogramma di riferimento "privo di orientamenti preferenziali" che può essere usato per l'identificazione delle fasi.

2.9.34. DENSITÀ D'INSIEME (*BULK DENSITY*) E DENSITÀ DI COMPATTAZIONE (*TAPPED DENSITY*) DELLE POLVERI

Densità d'insieme

La densità d'insieme di una polvere è il rapporto tra la massa di un campione di polvere non compattata ed il suo volume, includendo il contributo dello spazio vuoto interparticellare. Quindi, la densità d'insieme dipende sia dalla densità delle particelle di polvere, sia dalla disposizione spaziale delle stesse all'interno dello strato di polvere. La densità d'insieme è espressa in grammi per millilitro, nonostante che l'Unità Internazionale sia il chilogrammo per metro cubo ($1 \text{ g/ml} = 1000 \text{ kg/m}^3$), poiché le misurazioni sono effettuate utilizzando dei cilindri. Può essere anche espressa in grammi per centimetro cubo.

Le proprietà d'insieme di una polvere dipendono dalla preparazione, dal trattamento e dalle condizioni di conservazione del campione, ovvero dal modo in cui è stato manipolato. La densità d'insieme può presentare valori diversi in base alla disposizione delle particelle e può variare anche a causa dell'effetto della più leggera perturbazione dello strato di polvere. Quindi, la densità d'insieme di una polvere è spesso molto difficile da misurare con una buona riproducibilità e, nel presentare i risultati, è essenziale specificare come la determinazione è stata effettuata.

La densità d'insieme di una polvere si può determinare sia misurando il volume occupato da una massa nota di polvere versata in un cilindro graduato dopo eventuale setacciatura (Metodo 1), sia misurando la massa di un volume noto di polvere versata in un misuratore di volume (Metodo 2) o in un recipiente per pesata (Metodo 3).

Densità d'insieme e densità di compattazione delle polveri

Sono da preferire i Metodi 1 e 3.

METODO 1: MISURA EFFETTUATA IN UN CILINDRO GRADUATO

Procedimento. Se necessario, far passare una quantità di polvere sufficiente per completare il saggio attraverso un setaccio con aperture di maglia maggiori o uguali a 1,0 mm per frantumare gli agglomerati che possono essersi formati a riposo; questa operazione deve essere effettuata con cautela per evitare di modificare la natura del materiale. In un cilindro graduato da 250 ml (che permetta la lettura a 2 ml), asciutto, introdurre delicatamente, senza compattare, approssimativamente 100 g (m) del campione in esame, pesato con un'accuratezza dello 0,1 per cento. Se necessario, livellare la polvere con cautela senza compattarla e leggere il volume apparente (V_0) della polvere non assestata prendendo in considerazione l'unità graduata più prossima. Calcolare la densità d'insieme in grammi per millilitro usando la formula m/V_0 . Generalmente, per la valutazione di questa proprietà è preferibile effettuare più determinazioni.

Se la densità della polvere è troppo bassa o troppo alta, cosicché il campione in esame presenta un volume apparente, in assenza di compattazione, maggiore di 250 ml o minore di 150 ml, non è possibile utilizzare un campione di 100 g di polvere. In questo caso, si deve prelevare un campione di massa diversa, tale che il suo volume apparente, in assenza di compattazione, sia compreso tra 150 e 250 ml (volume apparente maggiore o uguale al 60 per cento del volume totale del cilindro); la massa del campione è specificata nell'espressione dei risultati.

Per campioni aventi un volume apparente compreso tra 50 e 100 ml, è necessario utilizzare un cilindro da 100 ml che permetta la lettura ad 1 ml; il volume del cilindro è specificato nell'espressione dei risultati.

METODO 2: MISURA EFFETTUATA IN UN MISURATORE DI VOLUME

Apparecchiatura. L'apparecchio (Figura 2.9.34.-1) si compone di un imbuto, sormontato da un setaccio da 1,0 mm, posto sopra una colonna contenente 4 deflettori in vetro sui quali la polvere scivola e rimbalza quando cade. Al fondo della colonna è posto un altro imbuto che raccoglie la polvere e la riversa in un piccolo recipiente posto immediatamente sotto di esso. Questo recipiente può avere forma cilindrica (volume $25,00 \pm 0,05$ ml, diametro interno $30,00 \pm 2,00$ mm) o cubica (volume $16,39 \pm 2,00$ ml, spigolo interno $25,4 \pm 0,076$ mm).

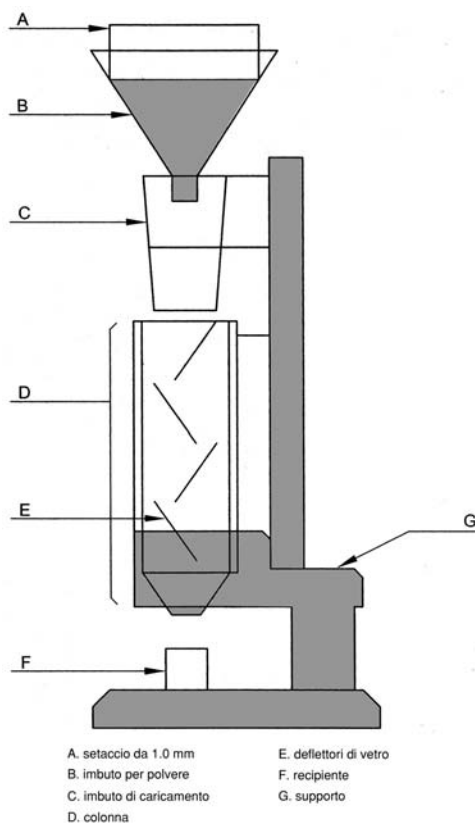


Figura 2.9.34.-1 - Misuratore di volume

Procedimento. Introdurre nell'apparecchio un eccesso di polvere e lasciare che scorra fino a che deborda dal recipiente di raccolta; utilizzare un minimo di 25 cm^3 di polvere per il recipiente cubico e 35 cm^3 per quello cilindrico. Con cautela, livellare l'eccesso di polvere lisciando, senza colpi, la superficie con il filo della lama di una spatola tenuta perpendicolare alla superficie stessa; è importante tenere la spatola ben perpendicolare ed in contatto con la superficie per evitare di comprimere la polvere o di rimuoverla. Eliminare i residui eventualmente presenti sulla superficie esterna del recipiente e determinare la massa M della polvere allo 0,1 per cento circa. Calcolare la densità d'insieme in grammi per millilitro usando la formula M/V_0 , dove V_0 è il volume del recipiente e annotare, come risultato, la media di 3 determinazioni effettuate su 3 differenti campioni della polvere.

METODO 3: MISURA EFFETTUATA IN UN RECIPIENTE PER PESATA

Apparecchiatura. L'apparecchio consiste in un recipiente cilindrico da 100 ml di acciaio inossidabile delle dimensioni specificate in Figura 2.9.34.-2.

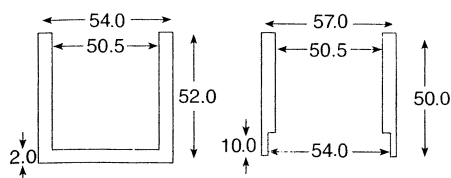


Figura 2.9.34.-2 - *Recipiente per pesata (sinistra) ed estensione (destra). Dimensioni in millimetri*

Procedimento. Prelevare una quantità di polvere sufficiente per completare il saggio e farla passare, se necessario, attraverso un setaccio da 1,0 mm per frantumare gli agglomerati che potrebbero essersi formati a riposo. Lasciare che il campione così ottenuto scorra liberamente nel recipiente di pesata, fino a debordare. Livellare con cautela l'eccesso di polvere procedendo come descritto nel Metodo 2. Pesare e calcolare la massa M_0 della polvere, allo 0,1 per cento circa, sottraendo la massa, determinata precedentemente, del recipiente di pesata, vuoto. Calcolare la densità d'insieme in grammi per millilitro usando la formula $M_0/100$ e annotare, come risultato, la media di 3 determinazioni effettuate su 3 differenti campioni della polvere.

Densità da compattazione

La densità dopo compattazione è il valore, aumentato, della densità d'insieme quando si provoca meccanica-

mente l'assestamento del campione di polvere contenuto in un recipiente.

La densità da compattazione si ottiene compattando meccanicamente un campione di polvere contenuto in un cilindro graduato o in un recipiente di pesata. Dopo aver osservato il volume o la massa iniziali della polvere, il recipiente è battuto meccanicamente e si effettuano letture del volume o della massa fino ad ottenere risultati pressoché costanti. La battitura meccanica è prodotta sollevando il cilindro o il recipiente e poi lasciandolo ricadere da un'altezza specificata, sotto l'effetto del suo stesso peso, secondo uno dei 3 metodi descritti di seguito. L'impiego di dispositivi che assicurino la rotazione del recipiente nel corso della caduta può essere preferibile per ridurre i rischi di separazione della massa di polvere.

METODO 1

Apparecchiatura. L'apparecchio (Figura 2.9.34.-3) è composto da:

- un cilindro graduato da 250 ml (che permetta la lettura a 2 ml) avente una massa di 220 ± 44 g,
- uno strumento capace di produrre, per minuto, sia nominalmente 250 ± 15 cadute da un'altezza di $3 \pm 0,2$ mm, sia nominalmente 300 ± 15 cadute da un'altezza di 14 ± 2 mm. La massa del supporto del cilindro, con il suo dispositivo di fissaggio, è di 450 ± 10 g.

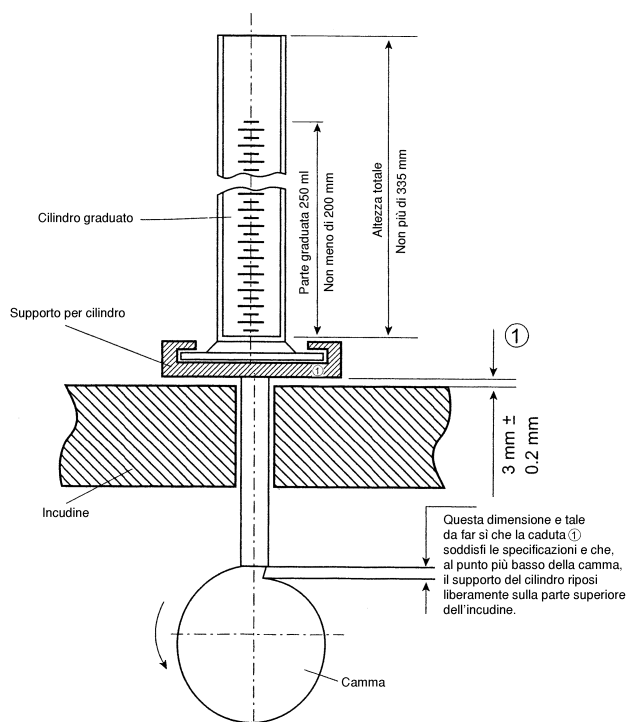


Figura 2.9.34.-3 - *Dispositivo per la compattazione di un campione di polvere. Dimensioni in millimetri*

Procedimento. Procedere come descritto sopra per la determinazione del volume apparente V_0 . Fissare il cilindro sul suo supporto. Sottoporre lo stesso campione di polvere a 10, 500 e 1250 cadute e leggere i corrispondenti volumi V_{10} , V_{500} , e V_{1250} approssimando all'unità graduata più vicina. Se la differenza tra V_{500} e V_{1250} è maggiore di 2 ml, ripetere la compressione per incrementi di, per esempio, 1250 cadute fino ad ottenere una differenza inferiore a 2 ml tra 2 misure successive. Per alcune polveri può essere appropriato, se sottoposto a convalida, un numero minore di cadute. Calcolare la densità da compattazione m/V_f , espressa in grammi per millilitro, dove V_f è il volume finale dopo la compattazione. Come regola generale, è auspicabile procedere ad un numero elevato di ripetizioni per la determinazione di questa proprietà. Insieme ai risultati, specificare l'altezza della caduta.

Se non è possibile utilizzare un campione di 100 g, ridurre la quantità e utilizzare un adatto cilindro da 100 ml, che consenta la lettura a 1 ml, del peso di 130 ± 16 g e montato su un supporto del peso di 240 ± 12 g. Insieme ai risultati specificare le condizioni modificate del saggio.

METODO 2

Procedimento. Procedere come indicato per il Metodo 1, ma con la variante dello strumento che permette di produrre, per minuto, 250 cadute da un'altezza fissa di $3 \pm 0,2$ mm.

METODO 3

Procedimento. Procedere come descritto nel Metodo 3 per la determinazione della densità d'insieme, ma utilizzando il recipiente di pesata sormontato dall'estensione rappresentata in figura 2.9.34.-2. Il recipiente, munito della sua estensione, è poi sottoposto a 50-60 cadute per minuto per mezzo di un apparecchio adatto a misurare la densità da compattazione. Eseguire 200 cadute, poi sollevare l'estensione e lisciare con cautela l'eccesso di polvere come descritto nel Metodo 3 di misura della densità d'insieme. Ripetere il procedimento effettuando ulteriori 200 cadute. Se la differenza tra le due masse ottenute dopo 200 e 400 cadute è superiore al 2 per cento, ripetere il procedimento, effettuando 200 cadute ogni volta, tante volte quanto è necessario per ottenere, tra due pesate successive, una differenza inferiore al 2 per cento. Calcolare la densità da compattazione $M_f/100$ espressa in grammi per millilitro, dove M_f è la massa della polvere contenuta nel recipiente di pesata. Come regola generale, è auspicabile procedere a diverse ripetizioni per la determinazione di questa proprietà.

Indice di comprimibilità

Poiché le interazioni interparticellari che influenzano le proprietà di densità di una polvere condizionano, allo stesso tempo, le sue proprietà di scorrimento, si può, comparando i valori di densità prima e dopo la compattazione, valutare l'importanza relativa di queste interazioni all'interno di una data polvere. Questa comparazione è spesso utilizzata per determinare la capacità di scorrimento di una polvere per mezzo di indicatori come l'indice di comprimibilità o l'indice di Hausner.

L'indice di comprimibilità e l'indice di Hausner misurano entrambi la propensione di una polvere a venire compressa come descritto sopra. Per questo motivo, essi sono indici della capacità della polvere ad assestarsi e permettono una valutazione dell'importanza relativa delle interazioni interparticellari. All'interno di una polvere fluida, queste interazioni sono meno significative e le densità prima e dopo la compattazione avranno valori più vicini. In materiali scarsamente scorrevoli esistono, frequentemente, interazioni interparticellari più grandi e si noterà una maggiore differenza tra le densità d'insieme e da compattazione. L'indice di comprimibilità e l'indice di Hausner riflettono, entrambi, queste differenze.

Indice di comprimibilità:

$$\frac{100(V_0 - V_f)}{V_0}$$

V_0 = volume apparente prima della compattazione,

V_f = volume finale dopo compattazione.

Indice di Hausner:

$$\frac{V_0}{V_f}$$

In base alla sostanza, l'indice di comprimibilità può essere determinato utilizzando V_{10} invece di V_0 .

2.9.35. FINEZZA DELLE POLVERI

La distribuzione delle dimensioni delle particelle è determinata mediante setacciatura analitica (2.9.38) o, quando appropriato, mediante applicazione di altro metodo adatto. In questo capitolo viene riportata una semplice classificazione descrittiva della finezza delle polveri. Per ragioni pratiche, per misurare la finezza delle polveri sono comunemente usati i setacci. La setacciatura è più adatta quando la maggior parte delle particelle sono superiori a circa $75 \mu\text{m}$; essa può comunque essere utilizzata per alcune polveri aventi

dimensioni delle particelle più piccole se il metodo può essere convalidato. La diffrazione della luce è anche una tecnica ampiamente utilizzata per misurare, entro un ampio intervallo, le dimensioni delle particelle.

Quando la distribuzione cumulativa è stata determinata mediante setacciatura analitica o mediante applicazione di altri metodi, le dimensioni delle particelle possono essere caratterizzate nella maniera seguente:

x_{90} = dimensioni delle particelle corrispondenti al 90 per cento della distribuzione cumulativa del materiale passante;

x_{50} = mediana delle dimensioni delle particelle (i.e. 50 per cento delle particelle sono più piccole e 50 per cento delle particelle sono più grandi);

x_{10} = dimensioni delle particelle corrispondenti al 10 per cento della distribuzione cumulativa del materiale passante.

È riconosciuto che il simbolo d è anche ampiamente utilizzato per designare questi valori. Pertanto, i simboli d_{90} , d_{50} , d_{10} possono essere utilizzati.

I seguenti parametri possono essere definiti in base alla distribuzione cumulativa.

$Q_r(x)$ = distribuzione cumulativa delle particelle con una dimensione inferiore a o uguale a x dove la lettera a pedice r riflette il tipo di distribuzione.

r	Distribuzione tipo
0	Numero
1	Lunghezza
2	Area
3	Volume

Pertanto, per definizione:

$Q_r(x) = 0,90$ quando $x = x_{90}$

$Q_r(x) = 0,50$ quando $x = x_{50}$

$Q_r(x) = 0,10$ quando $x = x_{10}$

Un metodo alternativo ma meno informativo di classificazione delle polveri è quello dell'uso dei termini descrittivi riportati nella Tabella 2.9.35. 1.

Tabella 2.9.35. 1.

Classificazione delle polveri mediante finezza		
Termine descrittivo	x_{50} (μm)	Distribuzione cumulativa rispetto al volume, $Q_3(x)$
Grossolana	>355	$Q_3(355) < 0,50$
Moderatamente sottile	$180-355$	$Q_3(180) < 0,50$ e $Q_3(355) \geq 0,50$
Sottile	$125-180$	$Q_3(125) < 0,50$ e $Q_3(180) \geq 0,50$
Molto sottile	≤ 125	$Q_3(125) \geq 0,50$

2.9.36. SCORRIMENTO DELLE POLVERI

L'ampio impiego di polveri nell'industria farmaceutica ha portato allo sviluppo di una grande varietà di metodi per caratterizzare la loro attitudine alla scorrimento. Non è quindi sorprendente che, nella letteratura farmaceutica, siano apparsi molti riferimenti tendenti a correlare le varie misure dello scorrimento delle polveri con le proprietà che influiscono sulla fabbricazione. Questa diversità metodologica è l'inevitabile risultato della complessità del comportamento delle polveri che fa intervenire molteplici variabili che rendono complicato il lavoro di caratterizzazione del loro scorrimento.

L'obiettivo di questo capitolo è quello di passare in rassegna i metodi di caratterizzazione dello scorrimento delle polveri comparsi più frequentemente nella letteratura farmaceutica. Inoltre, mentre è chiaro che è impossibile identificare un unico e semplice metodo che possa caratterizzare adeguatamente le proprietà di scorrimento delle polveri farmaceutiche, questo capitolo propone la standardizzazione di metodi di saggio che possono tornare utili nello sviluppo farmaceutico.

Per verificare lo scorrimento delle polveri vengono frequentemente citati quattro metodi:

- l'angolo di riposo,
- l'indice di comprimibilità o l'indice di Hausner,
- la velocità di scorrimento attraverso un orifizio,
- la cella di taglio o di scorrimento.

Per ciascuno di questi metodi di base sono disponibili, inoltre, numerose varianti. Data la molteplicità di metodi e di varianti, sarebbe vantaggiosa, dove possibile, una standardizzazione della metodologia di analisi.

È con questa prospettiva che questo capitolo tratta dei metodi più frequentemente impiegati, identifica i loro principali aspetti sperimentali e presenta delle raccomandazioni in materia di standardizzazione. In generale, ogni metodo per misurare lo scorrimento delle polveri deve essere pratico, utile, riproducibile, sensibile e fornire risultati significativi. Conviene ripetere che nessun metodo semplice permette di caratterizzare, adeguatamente e completamente, le molteplici proprietà, legate allo scorrimento delle polveri, che interessano l'industria farmaceutica. Una adatta strategia può essere quella di impiegare un insieme di metodi standardizzati per caratterizzare i differenti aspetti delle proprietà di scorrimento delle polveri, a seconda della necessità della applicazione farmaceutica considerata.

ANGOLO DI RIPOSO

L'angolo di riposo è utilizzato in parecchi campi della scienza per caratterizzare le proprietà di scorrimento dei solidi. Esso è l'espressione delle frizioni tra le particelle o della resistenza al movimento legata alla interazione delle particelle. Le misure dell'angolo di riposo dipendono molto dal metodo impiegato e presentano delle difficoltà sperimentali legate alla segregazione del materiale ed al consolidamento o all'aerazione delle polveri al momento della formazione del cono. Tuttavia, nonostante queste difficoltà, questo metodo continua ad essere utilizzato nell'industria farmaceutica ed, in letteratura, sono riportati numerosi esempi che indicano la sua validità nella previsione di problemi nella produzione.

L'angolo di riposo è l'angolo tridimensionale costante (relativo ad una base orizzontale) assunto da un cumulo di materiale di forma conica ottenuto con diversi metodi che vengono descritti, in breve, qui sotto.

Metodi fondamentali di misura dell'angolo di riposo

In letteratura sono descritti diversi metodi di misura dell'angolo di riposo. I più comunemente impiegati per determinare l'angolo di riposo statico possono essere classificati in relazione a due importanti variabili sperimentali:

- l'altezza dell'«imbuto», attraverso il quale passa la polvere, può essere fissa rispetto alla base, o può variare mentre si forma il cumulo;
- la base, sulla quale si forma il cumulo, può avere un diametro fisso o il diametro del cono di polvere può essere lasciato variare mentre si forma il cumulo.

Variazioni metodologiche

Questi metodi presentano inoltre delle varianti che, in vario grado, sono citate nella letteratura farmaceutica:

- *angolo di riposo in deflusso* : questo è determinato lasciando che una quantità di materiale in eccesso, posto sopra una base con diametro definito, “defluisca” dal contenitore. La formazione di un cono di polvere sulla base a diametro definito permette di determinare l'angolo di riposo in deflusso;
- *angolo di riposo dinamico*: un recipiente cilindrico (avente ad una estremità un coperchio piano e trasparente) è riempito di polvere e messo in rotazione ad una velocità definita; l'angolo di riposo dinamico è l'angolo che, rispetto all'orizzontale, forma la polvere fluente. L'angolo interno di frizione cinetica è definito dal piano che separa le particelle

che scivolano dallo strato superiore della polvere e quelle particelle che accompagnano la rotazione del recipiente (con una superficie ruvida).

Scala generale di capacità di scorrimento basata sull'angolo di riposo

Malgrado l'esistenza di una certa variabilità nella descrizione qualitativa dello scorrimento delle polveri usando l'angolo di riposo, la maggior parte della letteratura concorda con la classificazione di Carr⁽¹⁾ riportata nella tabella 2.9.36.-1. In letteratura si trovano esempi di formulazioni che, con un angolo di riposo dell'ordine di 40-50 gradi, presentano, in fabbricazione, un comportamento soddisfacente. Quando l'angolo di riposo supera i 50 gradi lo scorrimento è raramente accettabile per scopi produttivi.

Tabella 2.9.36.-1. *Scala di scorrimento basata sull'angolo di riposo* ⁽¹⁾

Attitudine allo scorrimento	Angolo di riposo (gradi)
Eccellente	25-30
Buona	31-35
Discreta (non necessita facilitazione)	36-40
Passabile (rischio di blocco)	41-45
Scadente (richiede facilitazione per agitazione o vibrazione)	46-55
Molto scadente	56-65
Estremamente scadente	> 66

(1) Carr RL. Evaluating flow properties of solids. *Chem. Eng.* 1965; 72: 163-168

Aspetti sperimentali

L'angolo di riposo non è una proprietà intrinseca della polvere, vale a dire che esso dipende moltissimo dal metodo utilizzato per formare il cono di polvere. Su questo punto la letteratura esistente evidenzia queste importanti considerazioni:

- la sommità del cono di polvere può essere deformata dall'impatto della caduta della polvere. È possibile ridurre questa deformazione da impatto formando il cono di polvere con attenzione;
- la natura della base sulla quale si forma il cono influisce sull'angolo di riposo. Si raccomanda di formare il cono su una 'base comune' che può essere costituita, per esempio, da uno strato della polvere. A tale scopo si può utilizzare una base di diametro fisso, con un bordo esterno rialzato che permette di trattenere uno strato di polvere sul quale si forma il cono.

Procedimento raccomandato per la misura dell'angolo di riposo

Misurare l'angolo di riposo su una base fissa con un bordo di contenimento che permette di trattenere sulla base uno strato di polvere. La base deve essere priva di vibrazioni. Variare l'altezza dell'imbuto per formare, con attenzione, un cono di polvere simmetrico, avendo cura di evitare ogni vibrazione mentre viene mosso l'imbuto. Per ridurre al minimo l'impatto causato sulla punta del cono dalla caduta della polvere, l'imbuto deve essere mantenuto ad una distanza di circa 2-4 cm dalla sommità del cumulo di polvere che si va formando. Questo metodo non è appropriato se è impossibile ottenere, con successo ed in modo riproducibile, un cono simmetrico. Misurare l'altezza del cono di polvere e calcolare l'angolo di riposo α con la seguente equazione:

$$\text{tang}(\alpha) = \frac{\text{altezza}}{0,5 \times \text{base}}$$

INDICE DI COMPRIMIBILITA' E INDICE DI HAUSNER

Nel corso degli ultimi anni la determinazione dell'indice di comprimibilità e dello strettamente collegato indice di Hausner è diventata un metodo semplice, rapido e molto popolare per la previsione delle caratteristiche di scorrimento delle polveri. L'indice di comprimibilità è stato proposto come strumento di misura indiretta di un insieme di proprietà: densità in "bulk", dimensioni e morfologia, area superficiale, umidità e coesione dei materiali, perché tutte queste proprietà possono influenzare il valore osservato dell'indice di comprimibilità. L'indice di comprimibilità, come l'indice di Hausner, sono determinati misurando sia il volume in "bulk" che il volume compresso di una polvere.

Metodi di misura dell'indice di comprimibilità e dell'indice di Hausner

Per quanto esistano delle varianti, il principale metodo per determinare l'indice di comprimibilità e l'indice di Hausner, consiste nel misurare il volume non compresso (V_0), ed il volume compresso finale (V_f), ottenuto dopo compressione del materiale fino a volume costante. L'indice di comprimibilità e l'indice di Hausner sono definiti dalle seguenti espressioni:

$$\text{Indice di comprimibilità} = 100 \times \frac{V_0 - V_f}{V_0}$$

$$\text{Indice di Hausner} = \frac{V_0}{V_f}$$

Il calcolo dell'indice di comprimibilità e dell'indice di Hausner può essere effettuato anche a partire dai valori della densità in "bulk" (ρ_{bulk}) e della densità dopo compressione (ρ_{tapped}):

$$\text{Indice di comprimibilità} = 100 \times \frac{\rho_{tapped} - \rho_{bulk}}{\rho_{tapped}}$$

$$\text{Indice di Hausner} = \frac{\rho_{tapped}}{\rho_{bulk}}$$

In una variante di questi metodi, la misura del cambiamento che si verifica per compressione è, talvolta, sostituita o integrata dal tasso di consolidamento. Per l'indice di comprimibilità e l'indice di Hausner, la scala di attitudine allo scorrimento generalmente accettata è riportata nella tabella 2.9.36.-2.

Tabella 2.9.36.-2 *Scala di attitudine allo scorrimento*⁽¹⁾

Indice di comprimibilità (per cento)	Attitudine allo scorrimento	Indice di Hausner
1-10	Eccellente	1,00-1,11
11-15	Buona	1,12-1,18
16-20	Discreta	1,19-1,25
21-25	Passabile	1,26-1,34
26-31	Scadente	1,35-1,45
32-37	Molto scadente	1,46-1,59
> 38	Estremamente scadente	> 1,60

(1) Carr RL. Evaluating flow properties of solids. *Chem.Eng.* 1965; 72: 163-168

Aspetti sperimentali

L'indice di comprimibilità e l'indice di Hausner non sono proprietà intrinseche della polvere; il loro valore, cioè, dipende dal metodo impiegato. La letteratura esistente indica numerosi importanti parametri che possono influire sulla determinazione del volume apparente non compresso V_0 o del volume compresso finale V_f o della densità in "bulk", ρ_{bulk} , o della densità dopo compressione, ρ_{tapped} :

- il diametro del cilindro utilizzato,
- il numero di volte in cui la polvere è stata "battuta" per ottenere la densità dopo compressione,
- la massa del materiale impiegato nel saggio,
- la rotazione del campione durante la compressione.

Procedimento raccomandato

Utilizzare un cilindro graduato da 250 ml ed un campione della massa di 100 g. Si possono impiegare quantitativi o volumi più piccoli ma, in tal caso, assieme ai risultati bisogna descrivere anche le variazioni introdotte. Si raccomanda di utilizzare il valore medio di tre determinazioni.

SCORRIMENTO ATTRAVERSO UN ORIFIZIO

La velocità di scorrimento di un materiale dipende da numerosi fattori alcuni dei quali sono collegati alle particelle ed altri al procedimento utilizzato. Il controllo della velocità di scorrimento attraverso un orifizio è stato presentato come una miglior misura della attitudine allo scorrimento della polvere. Può essere utile effettuare tale controllo in continuo, perché si sono osservati flussi pulsanti anche in materiali scorrevoli. Si possono osservare anche cambiamenti di velocità quando il recipiente si svuota. Sono state definite delle equazioni empiriche che pongono in relazione la velocità di scorrimento con il diametro dell'orifizio, la dimensione e la densità delle particelle. Comunque, la determinazione della velocità di scorrimento attraverso un orifizio è utile solamente con sostanze scorrevoli.

La velocità di scorrimento attraverso un orifizio è misurata, generalmente, come massa per unità di tempo fluita da diversi tipi di recipienti (cilindri, imbuti, tramogge). La misura della velocità di scorrimento può essere effettuata per incrementi discreti o in continuo.

Metodi fondamentali di misura della velocità di scorrimento attraverso un orifizio

In letteratura sono descritti diversi metodi di determinazione della velocità di scorrimento. I più comunemente impiegati possono essere classificati basandoci su tre importanti variabili sperimentali:

- il tipo di recipiente impiegato per contenere la polvere. I più comuni sono: cilindri, imbuti e le tramogge delle attrezzature di produzione;
- la dimensione e la forma dell'orifizio utilizzato. Il diametro e la forma dell'orifizio sono fattori critici per determinare la velocità di scorrimento;
- il metodo impiegato per misurare la velocità di scorrimento della polvere. La velocità di scorrimento può essere misurata in continuo per mezzo di una bilancia elettronica con un sistema di registrazione (registratore a carta continua, computer). Può anche essere misurata da quantità discrete di polvere (per esempio, il tempo impiegato, al decimo di secondo, da 100 g di polvere per passare attraverso l'orifizio o la quantità di polvere, al decimo di grammo, che passa attraverso l'orifizio in 10 s).

Variazioni metodologiche

Si può determinare sia la velocità di scorrimento di massa sia la velocità di scorrimento di volume. La determinazione della velocità di scorrimento di massa è il metodo più semplice, ma introduce, nei dati, una distorsione sistematica in favore del materiale ad alta densità. Poiché il riempimento delle matrici è volumetrico, può essere preferibile determinare la velocità di scorrimento di volume. Talvolta, per facilitare il flusso dal contenitore si può utilizzare un vibratore, ma tale pratica sembra complicare l'interpretazione dei dati. L'impiego di un orifizio mobile è stato proposto per simulare meglio le condizioni di impiego di una comprimitrice rotativa. Si può anche indicare il diametro minimo dell'orifizio attraverso il quale fluisce la polvere.

Scala generale di capacità di scorrimento basata sulla velocità di scorrimento attraverso un orifizio

Non è disponibile alcuna scala generale basata sulla velocità di scorrimento attraverso un orifizio perché dipende, in modo critico, dal metodo impiegato. Il confronto tra i risultati pubblicati è difficile.

Aspetti sperimentali

La velocità di scorrimento attraverso un orifizio non è una proprietà intrinseca della polvere, essa dipende moltissimo dal metodo impiegato. La letteratura esistente indica diversi importanti parametri in grado di influire sulle misure:

- il diametro e la forma dell'orifizio,
- la natura del materiale del contenitore (metallo, vetro, plastica)
- il diametro e l'altezza del letto di polvere.

Procedimento raccomandato

La misura della velocità di scorrimento attraverso un orifizio può essere utilizzata solo per materiali che possiedono una certa attitudine allo scorrimento e non è utilizzabile per materiali coesivi. A condizione che l'altezza del letto di polvere sia molto superiore al diametro dell'orifizio, la velocità è virtualmente indipendente da tale altezza. È preferibile utilizzare un contenitore cilindrico perché le pareti del contenitore devono avere scarso effetto sullo scorrimento. Con questa configurazione la velocità di scorrimento è determinata dal movimento di polvere su polvere piuttosto che di polvere lungo la parete del contenitore. Spesso la velocità di scorrimento aumenta quando l'altezza della colonna di

polvere è inferiore a due volte il suo diametro. L'orifizio deve essere circolare ed il cilindro non deve avere vibrazioni. I principi generali relativi alle dimensioni del cilindro sono i seguenti:

- il diametro dell'apertura deve essere superiore a sei volte il diametro delle particelle,
- il diametro del cilindro deve essere superiore a due volte il diametro dell'apertura.

L'impiego come contenitore di una tramoggia può essere appropriato perché è rappresentativo dello scorrimento in una situazione produttiva. È sconsigliabile usare un imbuto, soprattutto uno con uno stelo, perché la velocità di scorrimento sarà, allora, condizionata dal diametro e dalla lunghezza dello stelo come anche dalla frizione tra lo stelo e la polvere. Un cono tronco può essere appropriato, ma la velocità sarà influenzata dal coefficiente di frizione polvere-parete e, quindi, è molto importante la scelta di un materiale adatto.

Per l'apertura del cilindro usare, come base, una superficie piana avente, come opzione, la possibilità di far variare il diametro dell'orifizio in modo da fornire la massima flessibilità e meglio garantire uno schema di scorrimento polvere su polvere. La misura della velocità può essere discreta o in continuo. La misura in continuo per mezzo di una bilancia elettronica, permette una migliore rilevazione delle variazioni momentanee della velocità.

METODI CON L'IMPIEGO DI UNA CELLA DI TAGLIO

Per tentare di porre su basi più solide lo studio dello scorrimento delle polveri e della progettazione delle tramogge, sono stati sviluppati diversi dispositivi e metodi per la valutazione delle forze frizionali (di taglio) della polvere, che permettono una valutazione più completa e precisa delle proprietà di scorrimento delle polveri. Il metodo detto della cella di taglio è stato ampiamente utilizzato nello studio di prodotti farmaceutici. Esso permette la determinazione di molteplici parametri, in particolare i criteri di plasticità che rappresentano la relazione fra sforzo di taglio e deformazione di taglio, l'angolo di frizione interna, il limite elastico in mezzo non confinato, la resistenza alla trazione così come una serie di parametri derivati come il coefficiente di scorrimento ed altri indici di attitudine allo scorrimento. Permettendo un controllo più preciso dei parametri sperimentali, permette la determinazione

delle proprietà di scorrimento in funzione del carico di consolidamento, del tempo e di altre condizioni ambientali. Questi metodi sono stati usati con successo per determinare i parametri critici per tramogge e sili.

Metodi fondamentali di misura

Il primo tipo di cella di taglio è la cella cilindrica che è divisa orizzontalmente formando un piano di taglio tra la base fissa inferiore e la parte superiore mobile della cella. Dopo consolidamento del letto di polvere nella cella (utilizzando una procedura ben definita) viene determinata la forza necessaria per forzare la polvere a scorrere mettendo in movimento la parte superiore. Le celle di taglio di secondo tipo, celle anulari, presentano alcuni vantaggi rispetto alle celle cilindriche, compreso l'utilizzo di minori quantità di materiali, ma la loro concezione non permette di assicurare una equivalente uniformità perché gli sforzi di taglio esercitati sul materiale sono più elevati all'esterno dell'anello che nella zona centrale. Un terzo tipo di cella (tipo piano) è composto da un sottile strato di polvere compreso tra due superfici rugose, quella superiore fissa e quella inferiore mobile.

Ogni metodo comporta dei vantaggi e degli inconvenienti ma una analisi dettagliata è oltre lo scopo di questo capitolo. Come per gli altri metodi di caratterizzazione dello scorrimento delle polveri, in letteratura si trova la descrizione di numerose varianti. In generale, un vantaggio significativo della metodologia delle celle di taglio è quello che permette un miglior controllo sperimentale. Generalmente la metodologia è piuttosto lunga e richiede l'impiego di quantità significative di materiale e di un operatore qualificato.

Raccomandazioni

Le celle di taglio, con le loro molteplici configurazioni e metodologie di analisi, forniscono numerosi dati e permettono una caratterizzazione molto efficace dello scorrimento delle polveri. Inoltre, sono utili per ottimizzare la progettazione di tramogge e di sili. In questo capitolo non vengono fornite specifiche raccomandazioni metodologiche per la diversità delle attrezzature disponibili e delle procedure sperimentali. Si raccomanda di unire, ai risultati della caratterizzazione dello scorrimento delle polveri, una descrizione completa delle apparecchiature e dei metodi impiegati.

2.9.37. MICROSCOPIA OTTICA

La microscopia ottica per la caratterizzazione delle particelle è applicabile, generalmente, a particelle con dimensioni uguali o superiori a 1 μm . Il limite inferiore è imposto dal potere di risoluzione del microscopio. Il limite superiore è meno definito ed è determinato dalla maggiore difficoltà associata alla caratterizzazione delle particelle di grandi dimensioni. Sono disponibili diverse tecniche alternative per la caratterizzazione delle particelle esterne all'intervallo adatto al microscopio ottico. Il microscopio ottico è particolarmente utile per la caratterizzazione di particelle non sferiche. Questo metodo può essere impiegato anche come base per la calibrazione di metodi più rapidi sviluppati per l'analisi routinaria.

Apparecchiatura. Il microscopio impiegato deve essere stabile e protetto da vibrazioni. Il suo ingrandimento (prodotto dell'ingrandimento dell'obiettivo per quello dell'oculare e di altri componenti ottici che ingrandiscono) deve essere sufficiente per permettere una adeguata caratterizzazione delle particelle più piccole del campione. È conveniente cercare la massima apertura numerica dell'obiettivo per ogni intervallo di ingrandimento. Si possono utilizzare filtri polarizzatori in associazione con adatti analizzatori e lamine di fase. Filtri colorati, con trasmissione spettrale relativamente stretta, vengono impiegati con gli obiettivi acromatici e sono preferibili con gli obiettivi apocromatici; essi sono indispensabili per una buona resa del colore in microfotografia. Condensatori, corretti almeno per l'aberrazione sferica, vengono usati sotto la piastra portaoggetti del microscopio e quando si impiega la lampada. Nelle condizioni di uso l'apertura numerica del condensatore posto sotto la piastra portaoggetti deve coincidere con quella dell'obiettivo; essa è condizionata dalla effettiva apertura del diaframma del condensatore e dalla presenza di olio d'immersione.

Regolazione. L'allineamento preciso di tutti gli elementi del sistema ottico è essenziale, come anche una corretta messa a fuoco. La messa a fuoco degli elementi viene effettuata seguendo le raccomandazioni del fabbricante del microscopio. Si raccomanda un allineamento assiale critico.

Illuminazione. Una condizione per una buona illuminazione è quella di ottenere una intensità di luce uniforme e regolabile sull'intero campo di visione; è preferibile utilizzare l'illuminazione Köhler. Con particelle colorate, il colore dei filtri viene scelto per ottimizzare il contrasto ed i dettagli dell'immagine.

Caratterizzazione visiva. L'ingrandimento e l'apertura numerica devono essere sufficientemente alti per permettere una adeguata risoluzione dell'immagine delle particelle che devono essere caratterizzate. Determinare l'ingrandimento effettivo calibrando il micrometro dell'oculare mediante un micrometro-oggetto tarato. È possibile ridurre gli errori impiegando un ingrandimento sufficiente a fare in modo che l'immagine delle particelle occupi almeno 10 divisioni dell'oculare. Ogni obiettivo deve essere calibrato separatamente. Per calibrare la scala dell'oculare è necessario allinearla con quella del micrometro-oggetto. In questo modo è possibile eseguire una determinazione precisa della distanza fra le divisioni della scala dell'oculare. Per caratterizzare materiali che presentano una ampia distribuzione granulometrica possono essere necessari diversi differenti ingrandimenti.

Caratterizzazione fotografica. Se la dimensione delle particelle deve essere determinata con metodi fotografici, occorre fare attenzione per garantire una perfetta messa a fuoco dell'oggetto sul piano dell'emulsione fotografica. L'ingrandimento effettivo si determina fotografando un micrometro-oggetto, calibrato, impiegando una pellicola fotografica con sensibilità, potere di risoluzione e contrasto sufficienti. L'esposizione ed il trattamento utilizzati per fotografare il campione e per determinare l'ingrandimento devono essere identici. La dimensione apparente di una immagine fotografica è influenzata dall'esposizione, dallo sviluppo e dal processo di stampa, così come dal potere di risoluzione del microscopio.

Preparazione del vetrino. Il mezzo con cui viene preparato il vetrino dipende dalle proprietà fisiche del campione. Per permettere una soddisfacente osservazione dei contorni, il contrasto tra il campione ed il mezzo usato per la preparazione deve essere sufficiente ma non troppo elevato. Le particelle devono essere ripartite su un solo piano ed essere adeguatamente disperse per distinguere le singole particelle da caratterizzare. Inoltre, le particelle devono essere rappresentative della distribuzione delle dimensioni del materiale e non devono subire modifiche durante la preparazione del vetrino. Occorre prestare attenzione per garantire che siano soddisfatte queste particolari esigenze. La scelta del mezzo con cui preparare il vetrino deve comprendere una valutazione della solubilità delle particelle dell'analita.

Caratterizzazione della cristallinità. La cristallinità di un materiale può essere caratterizzata per verificare la sua corrispondenza con i requisiti di cristallinità definiti nella specifica monografia di una sostanza farma-

ceutica. Salvo diversa indicazione della monografia, depositare poche particelle del campione su un vetrino pulito. Esaminare la miscela mediante un microscopio polarizzatore: facendo ruotare la piastra portaoggetti si possono osservare birifrangenza (colori di interferenza) e posizioni di estinzione.

Saggio limite granulometrico mediante microscopia.

Pesare una adeguata quantità della polvere da esaminare (per esempio 10–100 mg) e sospenderla in 10 ml di un mezzo adatto in cui la polvere non si discioglie aiutandosi, se necessario, con un agente umettante. Occorre mantenere le particelle in sospensione omogenea utilizzando un mezzo avente densità eguale o compatibile ed agitando adeguatamente. Introdurre una porzione della sospensione omogenea in una adatta cella per il conteggio ed esaminare al microscopio un'area corrispondente ad almeno 10 µg della polvere in esame. Contare tutte le particelle che presentano una dimensione minima superiore al limite prescritto. La dimensione limite ed il numero accettabile di particelle che superano il limite sono definiti per ogni sostanza.

Caratterizzazione delle dimensioni delle particelle La determinazione delle dimensioni delle particelle presenta una complessità variabile in funzione della loro forma: il numero delle particelle caratterizzate deve essere sufficiente ad assicurare un accettabile livello di

incertezza nei parametri misurati. Nella norma ISO 9276 sono disponibili ulteriori informazioni sulla misura delle dimensioni delle particelle, dimensione del campione ed analisi dei dati. Per le particelle sferiche la dimensione è definita dal diametro. Per le particelle irregolari la dimensione può essere definita in varie maniere. Come regola generale, la caratterizzazione delle dimensioni delle particelle irregolari deve comprendere anche informazioni sul tipo di diametro misurato, come sulla forma delle particelle. In Figura 2.9.37.-1 sono rappresentati diversi parametri granulometrici comunemente utilizzati:

- *diametro di Feret*: è la distanza tra immaginarie linee parallele tangenti ad una particella orientata casualmente e perpendicolare alla scala dell'oculare,
- *diametro di Martin*: è il diametro delle particelle, orientate casualmente, al punto che le divide in due aree proiettate uguali,
- *diametro dell'area proiettata*: è il diametro di un cerchio avente la stessa area proiettata della particella,
- *lunghezza*: è la dimensione maggiore da bordo a bordo di una particella orientata parallelamente alla scala dell'oculare,
- *larghezza*: è la dimensione maggiore di una particella misurata perpendicolarmente alla lunghezza.

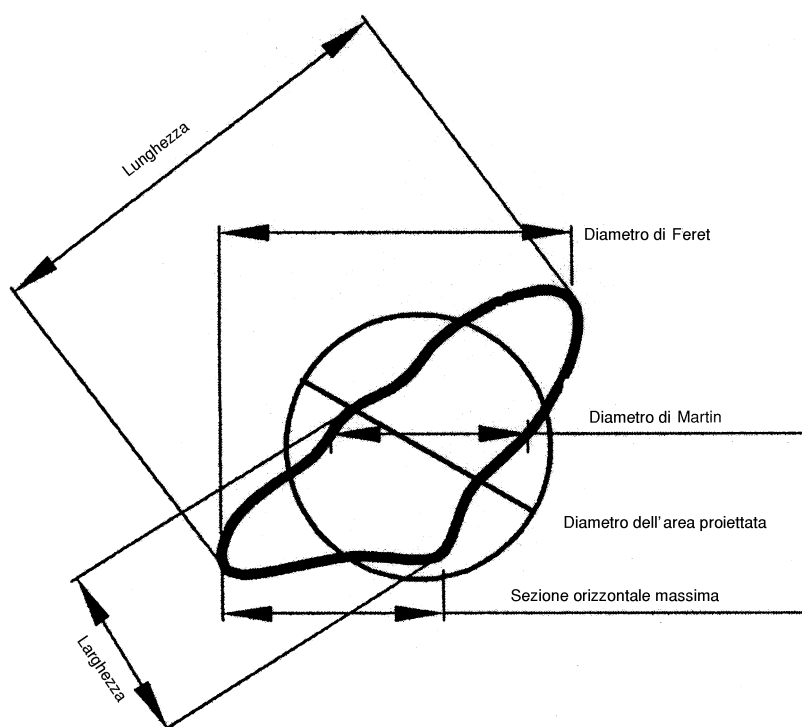


Figura 2.9.37.-1 - Misure comuni delle dimensioni delle particelle

Caratterizzazione della forma delle particelle. Per le particelle di forma irregolare, la caratterizzazione delle dimensioni deve comprendere anche informazioni sulla forma della particella. L'omogeneità della polvere deve essere verificata con un adatto ingrandimento. Le seguenti definizioni (vedi Figura 2.9.37.-2) vengono comunemente utilizzate per la forma delle particelle:

- *aciculare*: particella sottile, simile ad un ago, con larghezza e spessore analoghi,
- *colonnare*: particella lunga, sottile con larghezza e spessori maggiori di quelle di una particella aciculare,
- *lamellare*: particella sottile, piatta con lunghezza e larghezza simili,
- *piatta*: particella piatta, di lunghezza e larghezza simili ma con spessore maggiore di quello di una particella lamellare,
- *tabulare*: lunga, sottile, simile ad una lama,
- *isometrica*: particella con lunghezza, larghezza e spessore simili; ne fanno parte le particelle cubiche e sferiche.

Osservazioni generali. Generalmente, una particella è definita come la più piccola unità discreta. Una particella può essere una goccia liquida o semisolida, un cristallo singolo o una struttura policristallina, un amorfo o un agglomerato. Le particelle possono essere associate e questi gradi di associazione possono essere descritti con i seguenti termini:

- *lamellare*: fogli impilati,
- *aggregato*: massa di particelle aderenti,
- *agglomerato*: particelle fuse o cementate,
- *conglomerato*: miscela di almeno due tipi di particelle,
- *sferoliti*: ammasso a struttura radiale,
- *a drusa*: particella coperta da altre particelle piccole.

I seguenti termini descrivono le condizioni e lo stato delle particelle:

- *bordi*: angolari, arrotondati, lisci, taglienti, fratturati,
- *aspetto*: colore (utilizzando adatti filtri di bilanciamento del colore), trasparente, traslucido, opaco,
- *difetti*: occlusioni, inclusioni.

La superficie delle particelle può essere descritta come:

- *incrinata*: parzialmente divisa, rotta o fessurata,
- *liscia*: esente da irregolarità, rugosità o sporgenze,
- *porosa*: presenta delle aperture o dei canalicoli,
- *rugosa*: accidentata, irregolare, non liscia,
- *butterata*: presenta piccole intaccature.

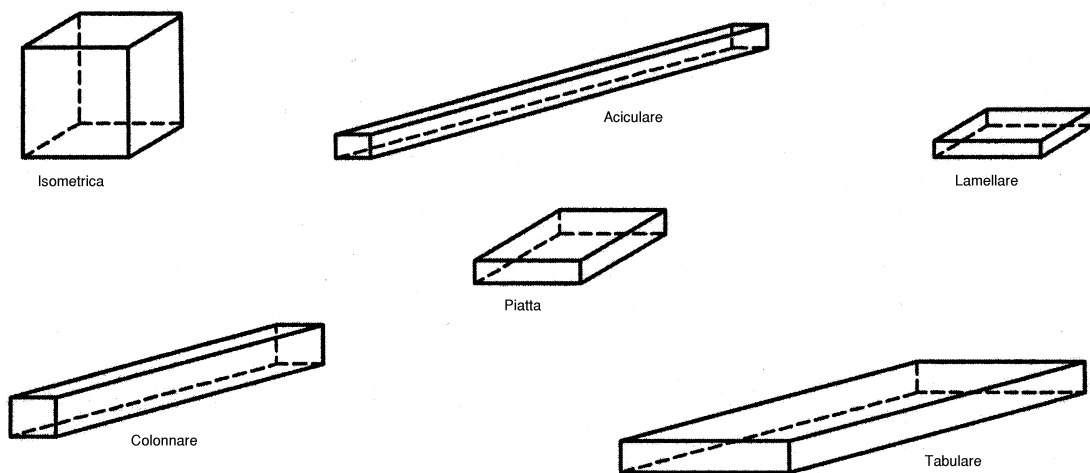


Figura 2.9.37.-2 - Descrizioni morfologiche comuni

2.9.38. DISTRIBUZIONE DELLE DIMENSIONI DELLE PARTICELLE: STIMA MEDIANTE SETACCIATURA ANALITICA

La setacciatura è uno dei più antichi metodi di classificazione delle polveri e granuli in funzione della loro distribuzione granulometrica. Quando si utilizza un setaccio costituito da una tela tessuta, la setacciatura delle particelle si effettua essenzialmente secondo le loro dimensioni intermedie (larghezza e spessore).

La setacciatura meccanica è soprattutto adatta nel caso in cui la maggior parte delle particelle sono di taglia superiore a circa 75 μm . Per particelle di dimensioni inferiori, il loro piccolo peso è insufficiente a vincere le forze superficiali di coesione e di adesione che pertanto spingono le particelle ad aderire l'una all'altra ed al setaccio, con la conseguenza che delle particelle che normalmente dovrebbero attraversare il setaccio si ritrovano trattenute. In questi casi sono più appropriati altri mezzi di agitazione quali la setacciatura a getto d'aria o a ultrasuoni. Tuttavia, alcune volte la setacciatura può essere usata per alcune polveri o granuli aventi una granulometria media inferiore a 75 μm , a condizione che il metodo possa essere convalidato. Nel settore farmaceutico, la setacciatura è il metodo di gran lunga più utilizzato per una classificazione di qualità relativamente grossolana di polveri e granuli con composizione omogenea. È un metodo particolarmente attrattivo in quanto le polveri ed i granuli sono classificati solo sulla base della loro distribuzione granulometrica ed in molti casi l'analisi può essere effettuata allo stato secco.

Tra le limitazioni del metodo c'è la necessità di utilizzare una apprezzabile quantità di campione (normalmente almeno 25 g, in funzione della densità della polvere o dei granuli e del diametro dei setacci) e la difficoltà connessa con la setacciatura di polveri e granuli oleosi o più generalmente coesivi che tendono a colmare le maglie del setaccio. Il metodo consiste essenzialmente in una stima bidimensionale delle dimensioni in quanto il passaggio attraverso le maglie del setaccio è più dipendente dalla larghezza e spessore massimali delle particelle che dalla loro lunghezza.

Il metodo descritto è destinato alla stima della distribuzione granulometrica totale di un prodotto avente una composizione omogenea. Non è destinato alla determinazione della proporzione delle particelle che passano o sono trattenute su 1 o 2 setacci.

Procedere alla stima della distribuzione granulometrica delle particelle secondo il "metodo della setacciatura a secco", salvo indicazioni contrarie specificate nella sin-

gola monografia. Quando si incontrano difficoltà nel raggiungere il punto finale (per esempio se il materiale non passa facilmente attraverso il setaccio) o quando è necessario usare i setacci più fini della gamma (al di sotto dei 75 μm) è conveniente considerare seriamente l'eventuale ricorso ad un altro metodo di granulometria.

La setacciatura deve essere effettuata in condizioni tali da non dar luogo ad assorbimento o perdita di umidità da parte del campione. L'umidità relativa dell'ambiente di misura deve essere controllata in modo da evitare, da parte del campione, assorbimento o perdita di umidità. Salvo indicazioni contrarie, la setacciatura analitica viene normalmente effettuata ad umidità ambiente. Eventuali speciali condizioni da applicare ad un prodotto particolare debbono essere precisate nella singola monografia.

Principi della setacciatura analitica. I setacci analitici sono costituiti da una tela tessuta a maglie, la cui apertura viene assunta essere quasi graduata, fissata alla base di un contenitore cilindrico aperto. Il principio del metodo è il seguente. I setacci vengono messi uno sopra all'altro in ordine crescente di apertura delle maglie e successivamente viene posta, nel setaccio superiore, la polvere da analizzare. L'insieme dei setacci viene sottoposto ad agitazione per un periodo di tempo normalizzato al termine del quale si determina accuratamente il peso del materiale rimasto su ciascun setaccio. Il saggio dà la percentuale in massa delle particelle comprese in ciascun intervallo granulometrico definito dalla apertura delle maglie dei singoli setacci.

Questo metodo di stima della distribuzione granulometrica di una polvere farmaceutica di composizione omogenea è generalmente adatto per prodotti nei quali almeno l'80 per cento delle particelle hanno dimensioni superiori a 75 μm . Il parametro dimensionale coinvolto nella determinazione della distribuzione granulometrica mediante setacciatura analitica è la lunghezza del lato della più piccola apertura quadrata (maglia) che lascia passare la particella.

SETACCI ANALITICI

I setacci analitici appropriati per i saggi di farmacopea sono conformi alle specifiche riportate nella edizione più recente della norma *ISO 3310-1: Setacci analitici - Esigenze tecniche e verifiche - Parte 1: Setacci analitici in tessuti metallici* (vedi Tabella 2.9.38.-1). Salvo indicazione contraria nella monografia, utilizzare quei setacci ISO elencati nella colonna "Dimensioni principali" della Tabella 2.9.38.-1, che sono raccomandati nella regione considerata.

Distribuzione delle dimensioni delle particelle: stima mediante setacciatura analitica

Tabella 2.9.38.- 1

Dimensioni principali	Apertura nominale ISO		Setaccio US N°	Setacci USP raccomandati (mesh)	Setaccio europeo N°	Setaccio giapponese N°
	Dimensioni supplementari					
	R 20/3	R 20				
11,20 mm	11,20 mm	11,20 mm			11200	
		10,00 mm				
			9,50 mm			
8,00 mm	9,00 mm					
	8,00 mm	8,00 mm				
		7,10 mm				
5,60 mm					5600	3,5
		6,30 mm				
		5,60 mm	5,60 mm			
4,00 mm					4000	4
		5,00 mm				
		4,75 mm				
4,00 mm	4,50 mm				4000	4,7
	4,00 mm	4,00 mm	4,00 mm	5		
		3,55 mm				
2,80 mm					2800	6,5
		3,15 mm				
		2,80 mm	2,80 mm	7		
2,00 mm					2000	8,6
		2,50 mm				
		2,36 mm		8		
2,00 mm	2,24 mm				2000	10
	2,00 mm	2,00 mm	2,00 mm	10		
		1,80 mm				
1,40 mm					1400	12
		1,70 mm				
		1,60 mm	1,40 mm	14		
1,00 mm					1000	16
		1,25 mm				
		1,12 mm				
1,00 mm	1,00 mm	1,00 mm	1,00 mm	18	1000	16
		900 µm				
		850 µm		20		
710 µm	800 µm				710	22
	710 µm	710 µm	710 µm	25		
		630 µm				
500 µm					500	30
		600 µm				
		560 µm	500 µm	35		
	500 µm	500 µm	500 µm	35		
	450 µm					
		425 µm				36

Distribuzione delle dimensioni delle particelle: stima mediante setacciatura analitica

Dimensioni principali	Apertura nominale ISO		Setaccio US N°	Setacci USP raccomandati (mesh)	Setaccio europeo N°	Setaccio giapponese N°
	Dimensioni supplementari					
	R 20/3	R 20				
		400 µm				
355 µm	355 µm	355 µm	45	355	355	42
	315 µm					
		300 µm	50			50
	280 µm					
250 µm	250 µm	250 µm	60	250	250	60
	224 µm					
		212 µm	70			70
	200 µm					
180 µm	180 µm	180 µm	80	180	180	83
	160 µm					
		150 µm	100			100
	140 µm					
125 µm	125 µm	125 µm	120	125	125	119
	112 µm					
		106 µm	140			140
	100 µm					
90 µm	90 µm	90 µm	170	90	90	166
	80 µm					
		75 µm	200			200
	71 µm					
63 µm	63 µm	63 µm	230	63	63	235
	56 µm					
		53 µm	270			282
	50 µm					
45 µm	45 µm	45 µm	325	45	45	330
	40 µm					
		38 µm			38	391

Metodi di Analisi

I setacci vengono scelti in modo da comprendere l'intero intervallo delle dimensioni particellari del campione in esame. Si raccomanda di utilizzare una serie di setacci aventi una progressione di $\sqrt{2}$ per la superficie dell'apertura delle maglie. L'insieme dei setacci viene assemblato con un ordine di larghezza di maglie decrescente dall'alto verso il basso. La dimensione delle aperture delle maglie è espressa in millimetri o micrometri.

I setacci analitici sono costruiti in acciaio inossidabile o, meno preferibilmente, in "bras" o altri materiali inerti appropriati.

La calibrazione e ricalibrazione dei setacci analitici viene effettuata conformemente alle specifiche riportate nella edizione più recente della norma ISO 3310-1. Prima dell'uso è opportuno procedere ad un esame visivo dei setacci per eventuali deformazioni o rotture, specie a livello della giunzione tra tela e contenitore. I setacci possono essere calibrati mediante procedure ottiche per stimare la taglia media e la variabilità delle aperture delle maglie. Per la valutazione delle dimensioni effettive delle maglie nell'intervallo 212-850 μm sono disponibili delle sfere di vetro calibrate. Salvo indicazioni contrarie specificate nella monografia, effettuare l'analisi per setacciatura a temperatura ambiente controllata e nelle condizioni ambientali di umidità relativa.

Pulitura dei setacci. Per la pulitura dei setacci si raccomanda di utilizzare esclusivamente un getto d'aria a bassa pressione o un flusso di liquido. Qualora dopo tale procedura alcune aperture risultano ancora ostruite da qualche particella, come ultima risorsa procedere con precauzione ad una lieve spazzolatura.

Quantità del campione in esame. Se la massa del campione in esame non è indicata nella monografia della sostanza considerata, usare un campione avente una massa compresa tra 25–100 g, in funzione della densità del materiale, per setacci di 200 mm di diametro. Per setacci con 76 mm di diametro, la massa del campione sarà dell'ordine di 1/7 di quella utilizzata per un setaccio di 200 mm. Determinare la massa ottimale per un dato materiale procedendo alla setacciatura, con agitatore meccanico, di masse diverse esattamente pesate (per esempio 25g, 50g e 100g) per uno stesso periodo di tempo (nota: se i risultati ottenuti per i campioni di 25g e 50g sono tra loro simili mentre il campione di 100 g presenta una più bassa percentuale di materiale che passa attraverso il setaccio più fine, allora il campione da 100g è troppo grande).

Qualora si disponga solo di un campione di 10-25g possono essere utilizzati setacci con diametro inferiore ma con le stesse maglie; si dovrà comunque rideterminare il punto finale. L'uso dei campioni aventi massa più piccola (ad esempio fino a 5g) può rendersi necessario.

Per materiali aventi una bassa densità particellare apparente o per materiali costituiti essenzialmente da particelle aventi essenzialmente lo stesso diametro, può essere necessario utilizzare quantità di campione inferiori a 5 g per un diametro del setaccio di 200 mm al fine di evitare un eccessivo intasamento del setaccio stesso. Il problema dell'intasamento delle aperture delle maglie è normalmente uno degli aspetti da prendere in considerazione durante la convalida di una particolare procedura di analisi per setacciatura.

Se il materiale in esame è sensibile alle fluttuazioni di umidità e tende ad assorbire o perdere significative quantità di acqua, il saggio deve essere effettuato in un ambiente appropriatamente controllato. Similmente se il materiale ha tendenza a dar luogo a cariche elettrostatiche, deve essere fatta particolare attenzione per assicurarsi che tale processo non influenzi l'analisi. La formazione di cariche elettrostatiche può essere minimizzata aggiungendo un agente antistatico (come il diossido di silicio colloidale e/o l'ossido di alluminio) ad un tenore dello 0,5 per cento (*m/m*). Se i sopracitati effetti indesiderati non possono essere eliminati è conveniente ricorrere ad un altro metodo di analisi granulometrica.

Metodi di agitazione. In commercio sono disponibili più modelli di setacci e sistemi di agitazione delle polveri che possono essere usati per la setacciatura analitica. Tuttavia i differenti metodi di agitazione possono dar luogo a risultati diversi per le analisi mediante setacciatura e la determinazione del punto finale in quanto il tipo e l'ampiezza delle forze che si esercitano sulle singole particelle non sono le stesse. Sono disponibili metodi che utilizzano sia una agitazione meccanica o elettromagnetica tale da indurre un movimento di oscillazione verticale sia un movimento circolare orizzontale o l'applicazione di scosse meccaniche che possono essere combinate con un movimento circolare orizzontale. È egualmente possibile il trascinarsi delle particelle con una corrente d'aria. I risultati devono indicare quale metodo di agitazione è stato usato ed i parametri di agitazione applicati (se tali parametri possono essere variati) in quanto variazioni nelle condizioni di agitazione potranno dare risultati diversi per l'analisi granulometrica e la determinazione del punto finale e le differenze possono essere sufficientemente significative tanto da dare, in certe condizioni, un risultato inaccettabile.

Determinazione del punto finale. Il punto finale dell'analisi mediante setacciatura viene raggiunto quando la massa trattenuta su ciascuno dei setacci (refuso) non cambia per più del 5 per cento o di 0,1 g (10 per cento per i setacci di 76 mm) rispetto al valore precedentemente misurato su quel setaccio. Qualora in un dato setaccio il refuse rappresenta meno del 5 per cento della massa totale del campione, il punto finale per tale

setaccio corrisponderà ad una variazione di massa inferiore o eguale al 20 per cento della massa precedentemente misurato nello stesso setaccio.

Se più del 50 per cento della massa totale del campione si trova in un qualunque setaccio, a meno che ciò sia indicato nella monografia, conviene ripetere il saggio aggiungendo alla colonna un setaccio di maglia intermedia compresa tra quelle del setaccio in questione e del setaccio immediatamente superiore nella serie originale, vale a dire il setaccio della serie ISO che non figura inizialmente nella colonna di setacci.

METODI DI SETACCIATURA

Agitazione meccanica (setacciatura a secco).

Tarare ciascun setaccio a 0,1 g. Depositare il campione esattamente pesato nel setaccio più in alto (quello a maglie più larghe) e riposizionare il coperchio. Agitare la colonna dei setacci per 5 min; separare con precauzione ciascun setaccio dalla colonna evitando perdita di materiale. Pesare di nuovo ciascun setaccio e determinare la massa di ogni refuso. Determinare in maniera simile la massa di materiale raccolta nella base. Riassemblare la colonna dei setacci e agitare ancora per 5 min. Separare e pesare ciascun setaccio come descritto precedentemente. Ripetere questa operazione fino al raggiungimento del punto finale (vedi Determinazione del punto finale sotto Setacci analitici). A completamento dell'analisi, aggiungere le masse ottenute. La perdita totale di materiale non deve essere superiore al 5 per cento della massa del campione iniziale.

Ripetere l'analisi con un nuovo campione ma operando una sola volta per un tempo eguale alla durata cumulativa delle precedenti fasi di agitazione. Verificare che questa durata della setacciatura permetta di soddisfare ai criteri specificati per la determinazione del punto finale. Quando tale punto finale è stato convalidato per uno specifico prodotto, allora un determinato e fisso tempo di setacciatura può essere usato per ulteriori analisi a condizione che la distribuzione granulometrica delle particelle si trovi nei limiti delle normali variazioni.

Se c'è evidenza che le particelle trattenute in uno o più setacci sono costituite da aggregati più che da particelle singole, è poco probabile che la setacciatura meccanica a secco permette di ottenere una buona riproducibilità. E' conveniente allora ricorrere ad un altro metodo di analisi della distribuzione granulometrica.

Metodi di trascinamento mediante aria (setacciatura a getto d'aria e ad ultrasuoni)

Per la setacciatura sono disponibili differenti tipi di apparecchiature commerciali che utilizzano una corrente d'aria in movimento. Uno di questi sistemi, che uti-

lizza un solo setaccio alla volta, è chiamato setacciatore a getto d'aria. Viene usata la stessa metodologia generale descritta per la setacciatura a secco ma con la variante che il sistema di agitazione meccanica è sostituito con un getto d'aria normalizzato. La determinazione della distribuzione granulometrica richiede più analisi sequenziali su singoli setacci cominciando con il setaccio più fine. La setacciatura a getto d'aria include spesso dei setacci più fini di quelli utilizzati per la setacciatura a secco classica. Questa tecnica è più appropriata nel caso in cui è necessario determinare solo le frazioni di taglie superiori o inferiori ad un dato valore.

Nel metodo ad ultrasuoni si utilizza un insieme di setacci nel quale il campione viene "trasportato" da una colonna d'aria, sottoposta ad oscillazioni verticali, che solleva il campione per poi riportarlo sulle maglie del setaccio con una data frequenza. Quando si utilizza questo metodo può essere necessario ridurre la quantità del campione a 5 g.

Questi due metodi possono essere utilizzati per l'analisi delle polveri o granuli quando le tecniche di setacciatura meccanica si rivelano non in grado di fornire risultati significativi.

Questi stessi metodi sono fortemente condizionati da una appropriata dispersione della polvere nel flusso di aria. Questa condizione può essere difficilmente realizzata quando si opera nella parte inferiore della gamma di setacci (al di sotto di 75 μm) o quando le particelle tendono ad essere molto coesive e soprattutto se la sostanza sviluppa cariche elettrostatiche. Per tali motivi la determinazione del punto finale è particolarmente critica ed è molto importante confermare che la frazione più grossolana del materiale è costituita da singole particelle e non da aggregati.

INTERPRETAZIONE

I dati ottenuti debbono includere la massa del campione, il tempo totale di setacciatura, una precisa descrizione della metodologia usata ed i valori assegnati a tutti i parametri variabili così come la massa trattenuta da ogni singolo setaccio e nella base.

Può essere conveniente convertire i dati ottenuti in una distribuzione di massa cumulativa e, se si vuole esprimere la distribuzione in termini di massa cumulativa di particelle di taglia inferiore ad un dato valore, è necessario che l'insieme dei setacci utilizzati ne contenga uno che lasci passare tutte le particelle. Se c'è evidenza che in uno qualunque dei setacci resti trattenuto, durante il processo di setacciatura, del materiale costituito da aggregati, l'analisi non è valida.

Uniformità delle unità di dosaggio

2.9.40. UNIFORMITÀ DELLE UNITÀ DI DOSAGGIO

Per assicurare l'uniformità delle unità di dosaggio*, ciascuna unità di un lotto deve avere un contenuto di sostanza attiva compreso entro un ristretto intervallo rispetto al valore indicato in etichetta. Le unità di dosaggio sono definite come forme farmaceutiche contenenti una dose singola, o parte di essa, di una sostanza attiva in ciascuna unità. Se non diversamente dichiarato, le specifiche della uniformità delle unità di dosaggio non si applicano alle sospensioni, emulsioni o gel per somministrazione cutanea in contenitori a

dose singola. Il saggio per l'uniformità di contenuto non è richiesto per preparazioni di elementi in tracce e di multivitamine.

Il termine "uniformità delle unità di dosaggio" è definito come il grado di uniformità nel contenuto di sostanza attiva tra le singole preparazioni monodose. Conseguentemente, salvo indicazione contraria riportata in altre parti della farmacopea, i requisiti del presente capitolo si applicano singolarmente a ciascuna sostanza attiva presente nelle unità di dosaggio che contengono una o più sostanze attive.

Tabella 2.9.40.-1. *Applicazione alle diverse forme farmaceutiche dei saggi di uniformità di contenuto (UC) e di variazione di massa (VM)*

Forma farmaceutica	Tipo	Sotto tipo	Quantità e proporzione di principio attivo	
			≥ 25 mg e ≥ 25 per cento	< 25 mg o < 25 per cento
Compresse	non rivestite		VM	UC
	rivestite	Rivestite con film	VM	UC
		altre	UC	UC
Capsule	rigide		VM	UC
	molle	Sospensioni, emulsioni, gel	UC	UC
		Soluzioni	VM	VM
Preparazioni solide in contenitori monodose	Mono - componente		VM	VM
	Multi - componente	Soluzioni liofilizzate nel contenitore finale	VM	VM
		altre		UC
Soluzioni contenute in recipienti monodose			VM	VM
Altre			UC	UC

* Sinonimi in lingua italiana: preparazioni a dose unica, preparazioni monodose

L'uniformità delle unità di dosaggio può essere dimostrata mediante due metodi (vedi tabella 2.9.40.-1)

- l'uniformità di contenuto,
- la variazione di massa.

Il saggio di uniformità di contenuto delle unità di dosaggio si basa sulla determinazione quantitativa individuale della(e) sostanza (e) attiva (e) in un certo numero di unità al fine di determinare se i singoli contenuti sono compresi tra i limiti stabiliti. Questo metodo può essere applicato in tutti i casi.

Il saggio di variazione di massa è applicabile alle seguenti forme farmaceutiche:

- (1) soluzioni in contenitori monodose o in capsule molli;
- (2) preparazioni solide (incluse le polveri, i granulati, i solidi sterili) in contenitori monodose ed alle quali non sono state aggiunte altre sostanze attive o inattive;
- (3) preparazioni solide (incluse quelle sterili) in contenitori monodose, con o senza altre sostanze attive o inattive aggiunte, che sono state preparate da vere soluzioni e liofilizzate nei contenitori finali e la cui etichetta riporta che sono state preparate in questo modo;
- (4) le capsule rigide, le compresse non rivestite e le compresse rivestite con film che contengono almeno 25 mg di una sostanza attiva rappresentante almeno il 25 per cento in massa della preparazione monodose o, nel caso delle capsule rigide, del contenuto della capsula; l'uniformità di eventuali altre sostanze attive presenti in quantità minori deve essere dimostrata in rapporto a quanto esige l'uniformità di contenuto.

L'applicazione del saggio di uniformità di contenuto si esige per tutte le forme farmaceutiche che non rispondono alle condizioni di applicazione del saggio di variazione di massa sopra specificate. Alternativamente per i prodotti che stanno al di sotto della soglia 25 mg/25 per cento, la verifica dell'uniformità delle unità di dosaggio può essere effettuata mediante il saggio della variazione di massa, più che dell'uniformità del contenuto, alla condizione seguente: la deviazione standard relativa (RSD)

della concentrazione della sostanza attiva nelle preparazioni monodose finali non è superiore al 2 per cento sulla base di dati di validazione di processo e di sviluppo e qualora le autorità regolatorie approvino tale cambiamento. La RSD della concentrazione è la RSD della concentrazione per unità di dosaggio (m/m o m/V) che è uguale al risultato del dosaggio effettuato su ciascuna unità diviso per la singola massa dell'unità di dosaggio. Vedi la formula di calcolo della RSD nella tabella 2.9.40.-2.

UNIFORMITÀ DI CONTENUTO

Prendere non meno di 30 unità e procedere come indicato qui di seguito per la forma farmaceutica considerata. Qualora per la determinazione quantitativa della preparazione e per il saggio dell'uniformità di contenuto si applichi una procedura differente può essere necessario definire un fattore di correzione da applicare ai risultati di quest'ultima.

Forme farmaceutiche solide. Effettuare la determinazione quantitativa su 10 singole unità usando un appropriato metodo analitico. Calcolare il valore di accettazione (vedi Tabella 2.9.40.-2)

Forme farmaceutiche liquide. Effettuare la determinazione quantitativa su 10 singole unità usando un appropriato metodo analitico. Operare sul prodotto, ben mescolato, che viene estratto da un singolo recipiente nelle normali condizioni di utilizzazione ed esprimere i risultati in termini di dose estraibile (delivered dose). Calcolare il valore di accettazione (vedi Tabella 2.9.40.-2).

Calcolo del valore di accettazione. Calcolare il valore di accettazione (VA) usando la formula

$$|M - \bar{X}| + ks$$

nella quale i termini sono definiti come in Tabella 2.9.40.-2.

VARIAZIONE DI MASSA

Effettuare la determinazione quantitativa della(e) sostanza(e) attiva(e) in un campione rappresentativo del lotto, mediante un appropriato metodo di analisi.

Uniformità delle unità di dosaggio

Il valore ottenuto costituisce il risultato A espresso come percentuale del valore indicato in etichetta (vedi Calcolo del valore di accettazione). La concentrazione (massa della sostanza attiva in rapporto alla massa della preparazione monodose) viene assunta essere uniforme. Prelevare non meno di 30 unità di dosaggio e procedere come di seguito indicato per la forma farmaceutica considerata.

Compresse non rivestite o rivestite con film. Pesare accuratamente e singolarmente 10 compresse. Calcolare il contenuto di sostanza attiva presente in ciascuna compressa, espresso in percentuale del valore indicato in etichetta, utilizzando la massa delle singole compresse ed il risultato della determinazione quantitativa. Calcolare il valore di accettazione.

Capsule rigide. Pesare accuratamente e singolarmente 10 capsule avendo cura di preservare l'identità di ciascuna capsula. Vuotare ciascuna capsula in maniera adeguata. Pesare accuratamente e singolarmente le capsule vuote e calcolare per ogni capsula la massa netta del suo contenuto sottraendo la massa della capsula vuota dalla rispettiva massa lorda. Calcolare il contenuto di sostanza attiva in ciascuna capsula utilizzando la massa di prodotto rimossa dalle singole capsule ed il risultato della determinazione quantitativa. Calcolare il valore di accettazione.

Capsule molli. Pesare accuratamente e singolarmente 10 capsule intatte per ottenere le loro masse lorde avendo cura di preservare l'identità di ciascuna capsula. Aprire quindi le capsule con uno strumento adeguato, pulito ed asciutto, come una forbice o una lama di rasoio, vuotarle lavando con un appropriato solvente. Lasciare evaporare il solvente, rimasto nelle capsule, a temperatura ambiente per circa 30 min, prendendo le necessarie precauzioni atte ad evitare perdite o assorbimento di umidità. Pesare singolarmente le capsule e calcolare la massa netta del contenuto. Calcolare il contenuto di sostanza attiva in ciascuna capsula utilizzando la massa di prodotto rimossa dalle singole capsule ed il risultato della determinazione quantitativa. Calcolare il valore di accettazione.

Forme farmaceutiche solide diverse da compresse e capsule. Procedere come indicato per le capsule rigide trattando ciascuna unità come descritto. Calcolare il valore di accettazione.

Forme farmaceutiche liquide. Pesare accuratamente e singolarmente la quantità di liquido rimossa da 10 contenitori nelle normali condizioni di utilizzazione. Se necessario calcolare il volume equivalente dopo aver determinato la densità. Calcolare il contenuto di sostanza attiva in ciascun contenitore utilizzando la massa del prodotto rimosso dai singoli contenitori ed il risultato della determinazione quantitativa. Calcolare il valore di accettazione.

Calcolo del valore di accettazione. Calcolare il valore di accettazione (VA) come indicato nel saggio dell'uniformità di contenuto ma sostituendo i contenuti singoli delle monodosi con i contenuti singoli stimati, così definiti

x_1, x_2, \dots, x_n = contenuti singoli stimati delle unità di dosaggio esaminate

dove:

$$x_i = w_i \times A / \bar{W}$$

w_1, w_2, \dots, w_n = masse singole delle unità di dosaggio esaminate,

A = contenuto di sostanza attiva (percentuale del valore indicato in etichetta) ottenuto mediante un appropriato metodo analitico (determinazione quantitativa).

\bar{W} = media delle singole masse delle unità usate nella determinazione quantitativa.

CRITERI

Salvo indicazioni contrarie, applicare i criteri seguenti.

Forme farmaceutiche solide e liquide. I requisiti di uniformità sono rispettati se il valore di accettazione delle prime 10 unità esaminate è inferiore o eguale a $L1$. Se il valore di accettazione è superiore a $L1$ esaminare altre 20 unità e calcolare il valore di accettazione. I requisiti di uniformità sono rispettati se il valore finale di accettazione delle 30 unità esaminate è inferiore o eguale a $L1$ e se nessun contenuto singolo per unità è inferiore a $(1-L2 \times 0,01)M$ o superiore a $(1 + L2 \times 0,01)M$ nel calcolo del valore di accettazione nel saggio di uniformità di contenuto o di variazioni di massa. Salvo indicazioni contrarie, $L1$ è eguale a 15,0 e $L2$ a 25,0.

Tabella 2.9.40.-2.

Variabile	Definizione	Condizioni	Valore
\bar{X}	Media dei singoli contenuti (x_1, x_2, \dots, x_n), espressi come percentuale del valore indicato in etichetta		
x_1, x_2, \dots, x_n	Contenuti singoli delle unità esaminate, espressi come percentuale del valore indicato in etichetta		
n	Dimensioni del campione (numero delle unità di dosaggio nel campione)		
k	Costante di accettabilità	Se $n = 10$, allora	2,4
		Se $n = 30$, allora	2,0
s	Deviazione standard del campione		$\left[\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1} \right]^{1/2}$
RSD	Deviazione standard relativa		$\frac{100 s}{\bar{X}}$
M (caso 1) Da applicarsi quando $T \leq 101,5$	Valore di riferimento	Se $98,5$ per cento $\leq \bar{X} \leq 101,5$ per cento, allora	$M = \bar{X}$ ($VA = ks$)
		Se $\bar{X} < 98,5$ per cento, allora	$M = 98,5$ per cento ($VA = 98,5 - \bar{X} + ks$)
		Se $\bar{X} > 101,5$ per cento, allora	$M = 101,5$ per cento ($VA = \bar{X} - 101,5 + ks$)
M (caso 2) Da applicarsi quando $T > 101,5$	Valore di riferimento	Se $98,5$ per cento $\leq \bar{X} \leq T$, allora	$M = \bar{X}$ ($VA = ks$)
		Se $\bar{X} < 98,5$ per cento, allora	$M = 98,5$ per cento ($VA = 98,5 - \bar{X} + ks$)
		Se $\bar{X} > T$, allora	$M = T$ per cento ($VA = \bar{X} - T + ks$)
Valore di accettazione (VA)			Formula generale $ M - \bar{X} + ks$, I calcoli per i diversi casi sono sopra specificati
$L1$	Valore di accettazione massimo permesso		$L1=15,0$ se non diversamente specificato
$L2$	Intervallo massimo permesso per la deviazione di ciascuna unità di dosaggio esaminata in rapporto al valore calcolato di M .	Nessun singolo risultato può essere inferiore a $0,75 M$; nessun singolo risultato può essere superiore a $1,25M$ (sulla base di $L2=25,0$)	$L2=25,0$ se non diversamente specificato
T	Contenuto, scelto come obiettivo, per unità di dosaggio al momento della produzione espresso come percentuale rispetto al valore indicato in etichetta. T è uguale al 100 per cento a meno che, per motivi di stabilità, non sia stato approvato un sovradosaggio; in questo caso T è maggiore del 100 per cento		

2.9.41. FRIABILITÀ DI GRANULI E SFEROIDI

Questo capitolo descrive due metodi per la determinazione della friabilità di granuli e sferoidi, che possono essere utilizzati nel corso degli studi di sviluppo. Comunque, è ammesso che si possano impiegare molti altri metodi equivalenti.

Questo saggio è destinato a determinare, in condizioni definite, la friabilità di granuli e sferoidi. La friabilità è definita come una riduzione della massa di granuli o sferoidi, o la formazione di frammenti di granuli o sferoidi, che si verifica quando i granuli o gli sferoidi sono sottoposti a sollecitazioni meccaniche durante la manipolazione (cadute, vibrazioni, fluidizzazioni, ecc.). L'abrasione, la rottura o la deformazione sono esempi di cambiamenti presentati dai granuli o dagli sferoidi.

METODO A

Apparecchio (apparecchio a letto fluido). L'apparecchio (vedi Figura 2.9.41.-1) è formato da un cilindro di vetro (A) con la parte inferiore conica. Il cilindro è dotato di un coperchio a setaccio (B) con apertura delle maglie di 500 μm , o di ogni altro adatto setaccio. L'estremità conica è collegata ad un tubo di vetro (C) a forma di U, che è possibile scollegare dal cilindro per la rimozione dei granuli o degli sferoidi. Il tubo ad U è unito ad un raccordo a T (D). Una estremità del raccordo a T è collegata, tramite un tubo in silicone, ad un manometro che permette di regolare il flusso dell'aria compressa (utilizzare aria compressa rispondente al saggio per l'acqua della monografia *Aria medicale (1238)*), l'altra uscita è collegata, attraverso un tubo in silicone ad un flussimetro a by pass (E) (0,10-1,00 m^3h^{-1}).

Procedimento. È generalmente adatto il seguente procedimento. Eliminare, per setacciatura, le particelle fini (impiegare un setaccio con apertura delle maglie di 710 μm o qualunque altro adatto setaccio). Introdurre nel cilindro (A) circa 8,0 g (m_1) di granuli o sferoidi. Chiudere l'apparecchio con il coperchio a setaccio (B). Regolare il flusso dell'aria compressa a 0,45 m^3h^{-1} . Dopo 15 minuti, staccando il tubo ad U, rimuovere dall'apparecchio i granuli o gli sferoidi e pesarli nuovamente (m_2). Esaminare tre campioni e calcolare il valore medio. Ogni tre determinazioni, per prevenire la formazione di cariche elettrostatiche, si raccomanda di spruzzare un agente antistatico sulle pareti interne dell'apparecchio.

Perdita all'essiccamento. Salvo indicazione contraria, seccare in stufa a 105 °C. In alternativa, si possono impiegare altre condizioni di essiccamento descritte nel metodo generale 2.2.32.

Calcoli.

$$F = \frac{m_1(100 - T_1) - m_2(100 - T_2)}{m_1} \times 100$$

F = friabilità,

T_1 = percentuale di perdita all'essiccamento prima del saggio (media di due determinazioni),

T_2 = percentuale di perdita all'essiccamento dopo il saggio (media di due determinazioni),

m_1 = massa dei granuli o degli sferoidi prima del saggio, in grammi,

m_2 = massa dei granuli o degli sferoidi dopo il saggio, in grammi.

METODO B

Apparecchio (apparecchio oscillante). L'apparecchio (vedi Figura 2.9.41.-2) consiste in un contenitore di vetro della capacità di 105 ml, contenente i granuli o gli sferoidi da analizzare, che viene sottoposto a delle oscillazioni orizzontali. La frequenza e la durata delle oscillazioni può essere variata in continuo. La frequenza può essere regolata su una scala da 0 a 400 oscillazioni/min. La durata può essere regolata in un intervallo tra 0 e 9999 s.

Procedimento. È generalmente adatto il seguente procedimento. Eliminare, per setacciatura, le particelle fini (impiegare un setaccio con apertura delle maglie di 355 μm o qualunque altro adatto setaccio). Nel contenitore di vetro pesare circa 10,00 g (m_1) di granuli o sferoidi. Fissare il contenitore sull'apparecchio. Per granuli e sferoidi duri, agitare per 240 s alla frequenza più alta, o, per 120 s alla frequenza più bassa (ad esempio 140 oscillazioni/min) per granuli o sferoidi soffici. Setacciare (355 μm o lo stesso setaccio impiegato precedentemente) e pesare di nuovo (m_2) i granuli o gli sferoidi. Esaminare tre campioni e calcolare il valore medio.

Perdita all'essiccamento. Salvo indicazione contraria, seccare in stufa a 105 °C. In alternativa, si possono impiegare altre condizioni di essiccamento descritte nel metodo generale 2.2.32.

Calcoli.

$$F = \frac{m_1(100 - T_1) - m_2(100 - T_2)}{m_1} \times 100$$

F = friabilità,

T_1 = percentuale di perdita all'essiccamento prima del saggio (media di due determinazioni),

T_2 = percentuale di perdita all'essiccamento dopo il saggio (media di due determinazioni),

m_1 = massa dei granuli o degli sferoidi prima del saggio, in grammi,

m_2 = massa dei granuli o degli sferoidi dopo il saggio, in grammi.

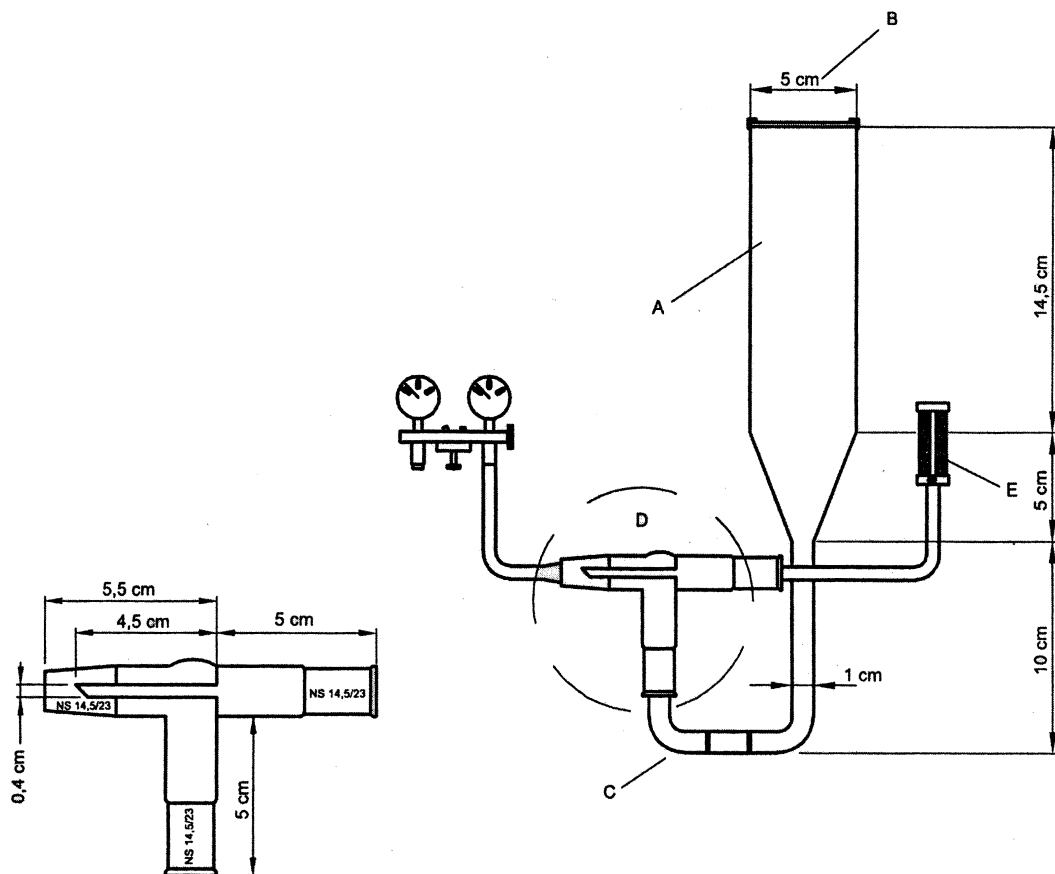


Figura 2.9.41.-1. - *Apparecchio a letto fluido*

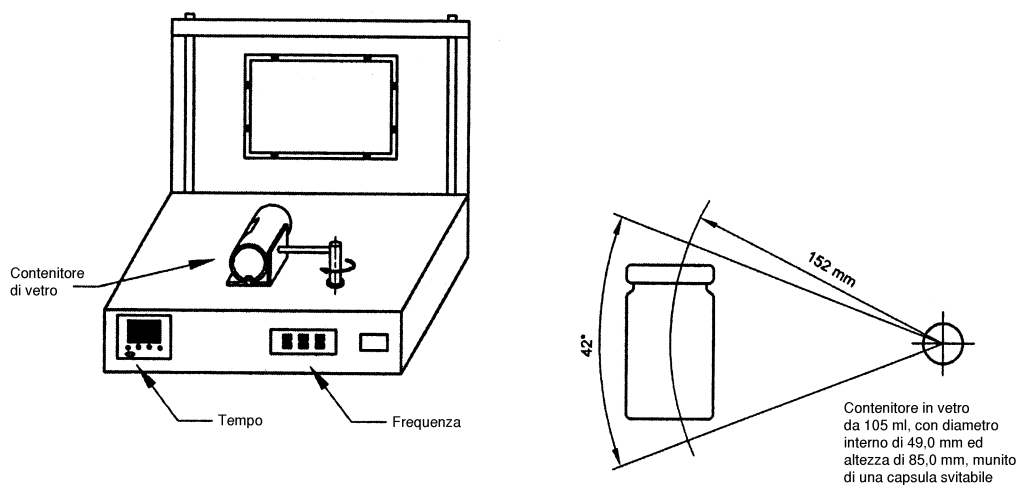


Figura 2.9.41.-2. - *Apparecchio oscillante*

2.9.42. SAGGIO DI DISSOLUZIONE PER LE FORME FARMACEUTICHE SOLIDE LIPOFILE

APPARECCHIATURA

L'apparecchio (vedi Figura 2.9.42.-1) è costituito da:

- un serbatoio per il mezzo di dissoluzione;
- una pompa che spinge il mezzo di dissoluzione verso l'alto attraverso la cella a flusso continuo;
- una cella a flusso continuo (vedi Figura 2.9.42.-2) particolarmente indicata per le forme solide lipofile, come supposte e capsule molli. È costituita da tre parti trasparenti che si inseriscono una nell'altra. La parte inferiore (1) è composta da due camere adiacenti comunicanti attraverso un sistema di troppo-pieno.

Il mezzo di dissoluzione passa attraverso la camera A ed è sottoposto ad un flusso ascendente.

Nella camera B il flusso è discendente e diretto verso un foro di uscita di piccole dimensioni situato sopra un sistema filtrante. La parte mediana della cella (2) ha una cavità destinata a raccogliere gli eccipienti lipofili che galleggiano sul mezzo di dissoluzione. Una griglia metallica funge da filtro grossolano. La parte superiore (3) porta una unità filtrante per filtri di carta, fibra di vetro o cellulosa;

- un bagno maria che consente di mantenere il mezzo di dissoluzione a $37 \pm 0,5$ °C.

Mezzo di dissoluzione. Se il mezzo di dissoluzione è tamponato, aggiustare il pH entro $\pm 0,05$ unità del valore prescritto. Prima del saggio allontanare dal mezzo di dissoluzione tutti i gas disciolti poiché possono essere causa della formazione di bolle che altererebbero in modo significativo i risultati.

METODO

Porre una unità della preparazione in esame nella camera A. Chiudere la cella con il sistema filtrante preparato in precedenza. All'inizio del saggio si deve eliminare l'aria dalla camera A attraverso un piccolo orifizio connesso con il dispositivo filtrante. Scaldare il mezzo di dissoluzione ad una appropriata temperatura, tenendo presente il punto di fusione della preparazione. Usando una pompa adatta, introdurre il mezzo di dissoluzione caldo dalla base della cella così da ottenere un appropriato flusso continuo attraverso un circuito aperto o chiuso alla velocità prescritta (± 5 per cento). Quando il mezzo di dissoluzione raggiunge il troppo-pieno, comincia a fuoriuscire aria attraverso il capillare e la camera B si riempie con il mezzo di dissoluzione. La preparazione si ripartisce nel mezzo di dissoluzione secondo le sue proprietà fisico-chimiche.

In casi giustificati ed autorizzati, per supposte di grande volume, il saggio può essere effettuato su un frammento rappresentativo.

CAMPIONAMENTO E VALUTAZIONE

I campioni sono sempre raccolti all'uscita della cella, indipendentemente dal fatto che il circuito sia aperto o chiuso.

Filtrare il liquido prelevato con un filtro inerte, di adatta porosità, che non adsorba in modo apprezzabile la sostanza attiva dalla soluzione e che non contenga sostanze, estraibili dal mezzo di dissoluzione, che potrebbero interferire con il metodo analitico prescritto. Procedere quindi all'analisi del filtrato come prescritto.

La quantità di sostanza attiva disciolta in un tempo prescritto viene espressa come percentuale del contenuto dichiarato in etichetta.

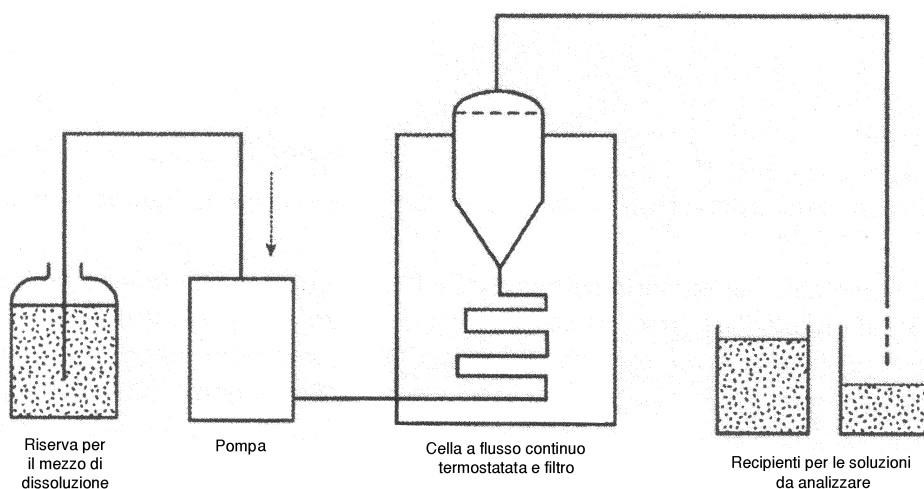


Figura 2.9.42.-1. Apparecchio a flusso continuo

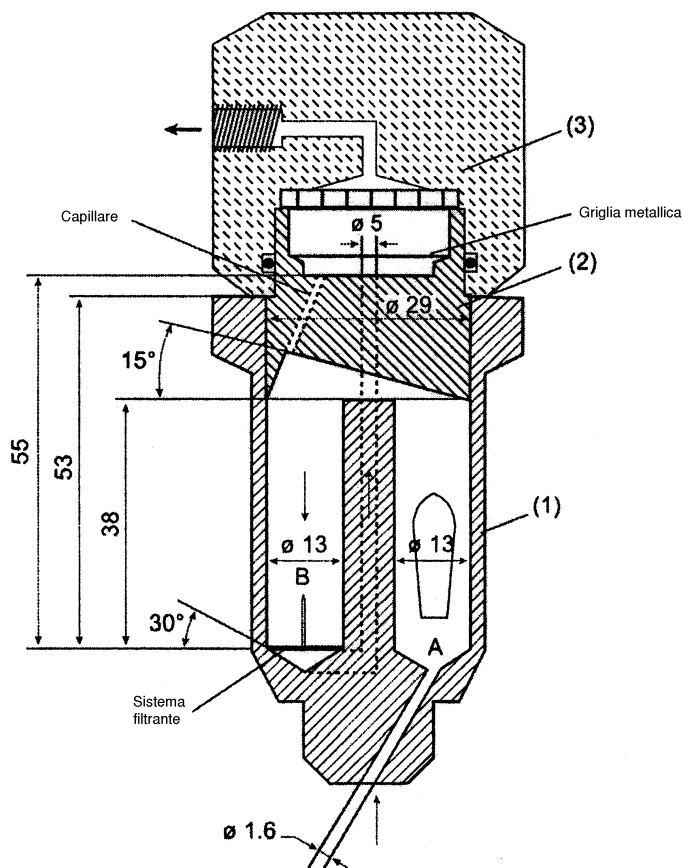


Figura 2.9.42.-2. - Cella a flusso continuo
Dimensioni in millimetri

2.9.43. DISSOLUZIONE APPARENTE

Questo metodo è essenzialmente usato per determinare la velocità di dissoluzione apparente di sostanze solide pure. Può essere usato anche per la determinazione della velocità di dissoluzione apparente di sostanze attive nelle preparazioni presentate sotto forma di polveri o di granuli.

APPARECCHIATURA

Tutte le parti dell'apparecchio che possono venire in contatto con il campione o con il mezzo di dissoluzione sono chimicamente inerti, non adsorbono, reagiscono o interferiscono con la sostanza in esame. Nessun elemento dell'apparecchio o dell'assemblaggio nel quale l'apparecchio stesso è posto contribuisce a movimenti di agitazione o di vibrazione significativi oltre quello derivante dal sistema a flusso continuo.

È preferibile utilizzare un apparecchio che permetta di osservare il campione.

L'apparecchio (vedi figura 2.9.43.-1) è costituito da:

- una riserva per il mezzo di dissoluzione;
- una pompa che fa risalire il mezzo di dissoluzione attraverso la cella a flusso continuo;
- una cella a flusso continuo, in materiale preferibilmente trasparente, montata verticalmente e munita di un dispositivo di filtrazione per trattenere le particelle non disciolte;
- un bagno ad acqua termostata che permette di mantenere il mezzo di dissoluzione alla temperatura scelta (generalmente a $37 \pm 0,5$ °C).

La cella a flusso continuo (vedi figura 2.9.43.-2) è costituita da 3 unità che si adattano l'una con l'altra. L'unità inferiore è sormontata da un sistema di griglie e filtri sul quale viene depositato il campione. L'unità mediana posta sopra l'unità inferiore contiene un inserto che permette la setacciatura del campione quando il mezzo di dissoluzione passa attraverso la cella. Questo inserto è fatto di 2 parti: un setaccio a forma conica che viene messo sul campione ed un fermaglio, posto al centro dell'unità mediana, per trattenere il setaccio durante il

Dissoluzione apparente

passaggio del mezzo di dissoluzione. Un secondo sistema di filtrazione (griglia e filtro) è posto al di sopra dell'unità mediana prima di collocare l'unità superiore attraverso la quale il mezzo di dissoluzione esce dalla cella.

MEZZO DI DISSOLUZIONE

Se il mezzo di dissoluzione è tamponato, aggiustare il pH entro $\pm 0,05$ unità. Rimuovere qualunque gas disciolto nel mezzo di dissoluzione prima di effettuare il saggio in quanto i gas possono formare delle bolle in grado di influenzare significativamente i risultati.

METODO

Porre una sfera del diametro di $5 \pm 0,5$ mm sul fondo del cono dell'unità inferiore e quindi delle sfere di vetro di dimensioni adeguate, preferibilmente di diametro pari a $1 \pm 0,1$ mm. Mettere successivamente un setaccio (apertura delle maglie di 0,2 mm), un filtro appropriato ed un secondo setaccio nella parte alta dell'unità inferiore. Assemblare l'unità mediana sull'unità inferiore. Pesare l'insieme. Porre il campione sul dispositivo di filtrazione e pesare il campione nella cella. Porre il setaccio dell'inserto (il cono verso l'alto) sul campione e quindi posizionare il fermaglio nel centro dell'unità mediana. Mettere ancora un setaccio (apertura delle maglie 0,2 mm) ed un appropriato filtro nella parte superiore dell'unità mediana. Assemblare l'unità superiore. Riscaldare il mezzo di dissoluzione alla temperatura scelta. Usando una pompa adeguata introdurre il

mezzo di dissoluzione attraverso la parte inferiore della cella al fine di ottenere un appropriato flusso continuo, in circuito aperto o chiuso, alla prescritta velocità con una precisione del ± 5 per cento.

CAMPIONAMENTO

Il prelevamento del mezzo di dissoluzione viene effettuato sempre all'uscita della cella indipendentemente dal fatto che il circuito sia aperto o chiuso.

Filtrare immediatamente il liquido raccolto. Il filtro, con una appropriata porosità, deve essere inerte e non in grado di dar luogo ad un significativo adsorbimento della sostanza dalla soluzione; non deve inoltre contenere sostanze estraibili dal mezzo di dissoluzione che potrebbero interferire con il metodo analitico prescritto.

VALUTAZIONE DEI RISULTATI

Quando il saggio viene effettuato al fine della liberazione di un lotto, è necessario effettuare un adeguato numero di replicazioni.

I risultati vengono espressi nel modo seguente:

- la quantità di sostanza disciolta nell'unità di tempo (se la dissoluzione è lineare);
- il tempo di dissoluzione dell'intero campione e a degli stadi intermedi appropriati.

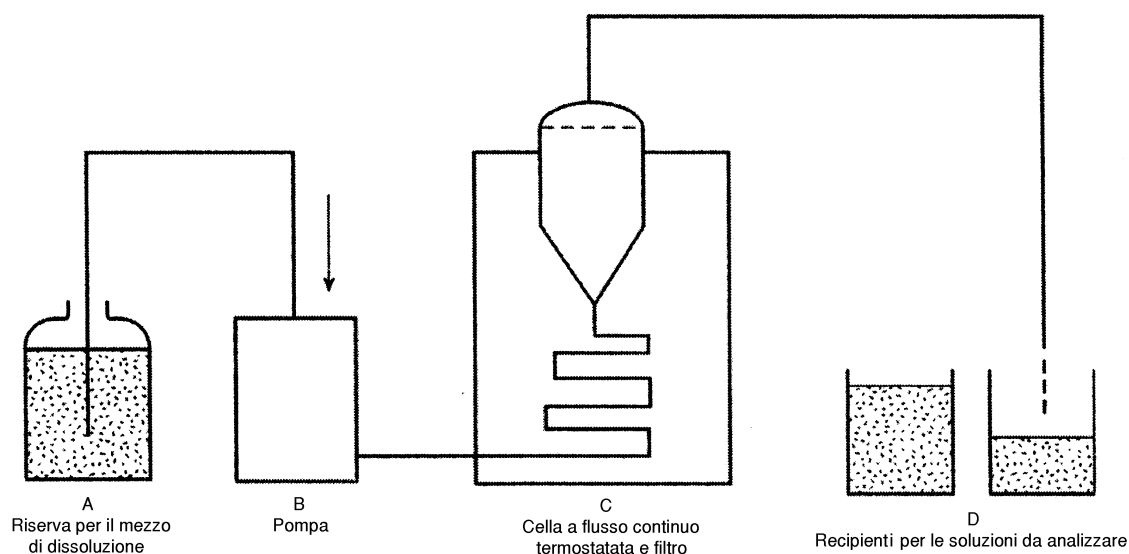


Figura 2.9.43.-1. *Apparecchio a flusso continuo*

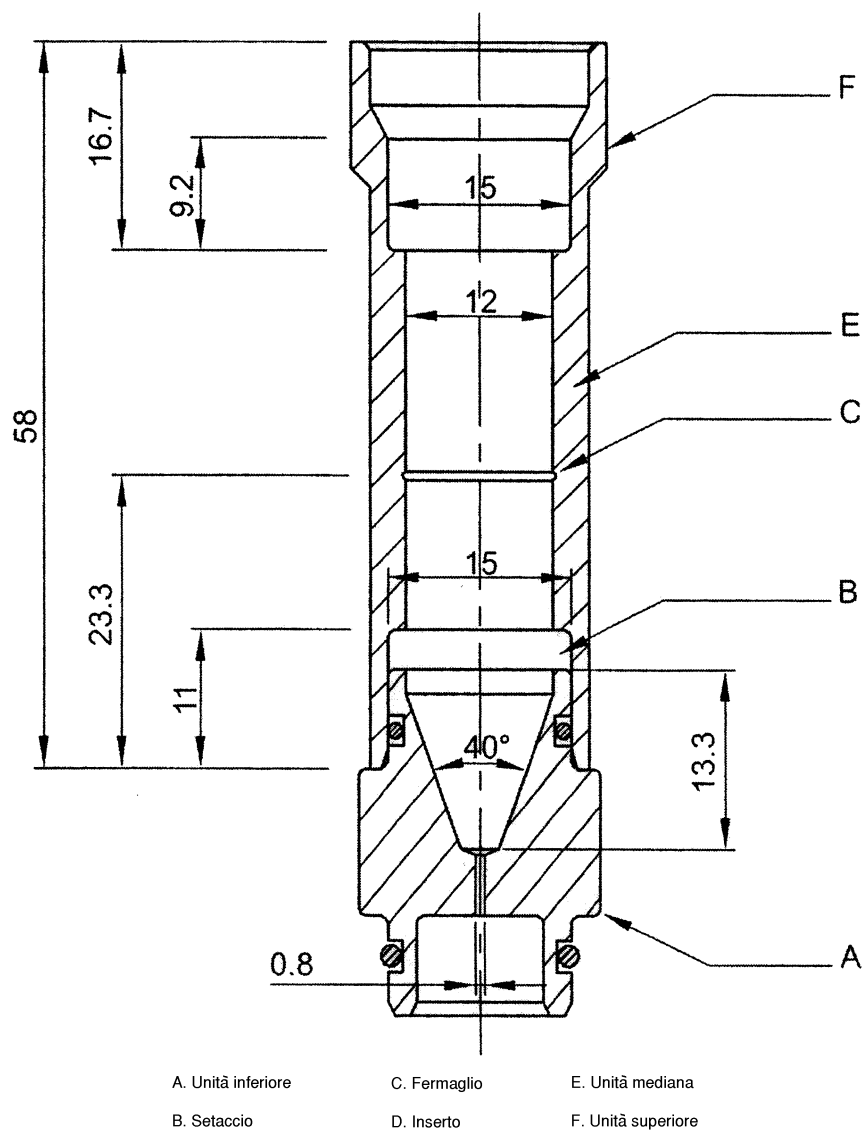


Figura 2.9.43.-2. Cella a flusso continuo.
Dimensioni in millimetri.

3. Materiali usati nella fabbricazione di contenitori e contenitori

3.1.	Materiali usati nella fabbricazione di contenitori	447	3.2.	Contenitori	495
------	---	-----	------	-----------------------	-----

3.1. Materiali usati nella fabbricazione di contenitori

3.1.	Materiali usati nella fabbricazione di contenitori	449	3.1.8.	Olio di silicone usato come lubrificante	475
3.1.1.	Materiali per contenitori per sangue umano e sue frazioni	449	3.1.9.	Silicone elastomero per chiusure e tubolature	476
3.1.1.1.	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per sangue umano e sue frazioni	449	3.1.10.	Materiali a base di polivinile cloruro non plastificato per contenitori per soluzioni acquose non iniettabili	478
3.1.1.2.	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per tubi usati per la trasfusione di sangue e sue frazioni	454	3.1.11.	Materiali a base di polivinile cloruro non plastificato per contenitori per forme farmaceutiche essiccate per somministrazione orale	481
3.1.3.	Poliiolefine	456	3.1.13.	Additivi per plastica	484
3.1.4.	Polietilene senza additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche	462	3.1.14.	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per soluzioni acquose per infusione endovenosa	487
3.1.5.	Polietilene con additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche	463	3.1.15.	Polietilene tereftalato per contenitori per preparazioni per uso non parenterale	491
3.1.6.	Polipropilene per contenitori e chiusure per preparazioni parenterali ed oftalmiche	468			
3.1.7.	Etilene-vinile acetato copolimero per contenitori e tubolature per preparazioni destinate alla nutrizione parenterale totale	473			

3.1. MATERIALI USATI NELLA FABBRICAZIONE DI CONTENITORI

I materiali descritti in questo capitolo sono utilizzati per la produzione di contenitori per uso farmaceutico. Possono anche essere usati per la produzione di strumenti o parti di strumenti per uso medico-chirurgico.

Materiali e polimeri diversi da quelli descritti in Farmacopea possono essere utilizzati previa autorizzazione, caso per caso, da parte dell'autorità competente responsabile dell'autorizzazione alla vendita della preparazione presente nel contenitore.

3.1.1. MATERIALI PER CONTENITORI PER SANGUE UMANO E SUE FRAZIONI

NOTA: per materiali a base di polivinile cloruro plastificato utilizzati per contenitori per soluzioni acquose per infusione endovenosa, vedere paragrafo 3.1.14.

I contenitori in plastica per la raccolta, conservazione e somministrazione di sangue e delle sue frazioni possono essere fabbricati con uno o più polimeri, se necessario con alcuni additivi.

Se una parte o tutto il contenitore è costituito da materiale riportato in Farmacopea, la qualità del materiale è controllata con i metodi indicati in quel testo (Vedere 3.1.1.1. *Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per sangue umano e sue frazioni*).

In normali condizioni di uso i materiali e i contenitori prodotti con i suddetti materiali non rilasciano monomeri, o altre sostanze, in quantità tale da costituire un pericolo e non portano neppure a modificazioni anormali del sangue e sue frazioni.

3.1.1.1. MATERIALI A BASE DI POLIVINILE CLORURO PLASTIFICATO PER CONTENITORI PER SANGUE UMANO E SUE FRAZIONI

DEFINIZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato contengono non meno del 55 per cento di polivinile cloruro e contengono vari additivi, oltre a polimeri ad elevata massa molecolare ottenuti per polimerizzazione del cloruro di vinile.

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per il sangue umano e sue frazioni sono definiti secondo la natura e le proporzioni delle sostanze utilizzate nella loro produzione.

PRODUZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato sono prodotti con metodi di polimerizzazione che assicurano un residuo di vinile cloruro inferiore a 1 ppm. Il metodo utilizzato per la produzione è validato per dimostrare che il prodotto soddisfa al seguente saggio:

Vinile cloruro. Non più di 1 ppm, determinato con gas cromatografia a spazio di testa (2.2.28), utilizzando *etere R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Utilizzando una microsiringa, iniettare 10 µl di *etere R* in 20,0 ml di *dimetilacetammide R*, immergendo la punta dell'ago nel solvente. Immediatamente prima dell'uso, diluire la soluzione a 1000 volte il suo volume con *dimetilacetammide R*.

Soluzione in esame. Introdurre 1,000 g del materiale in esame in un flaconcino da 50 ml ed aggiungere 10,0 ml della soluzione dello standard interno. Chiudere il flaconcino e fissare il tappo. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre il flaconcino a b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Soluzione madre di vinile cloruro. Preparare sotto cappa ventilata. Introdurre 50,0 ml di *dimetilacetammide R* in un flaconcino da 50 ml, chiudere, fissare il tappo e pesare con la precisione di 0,1 mg. Riempire una siringa di polietilene o di polipropilene da 50 ml con *vinile cloruro R* gassoso, lasciare che il gas rimanga a contatto con la siringa per circa 3 min, vuotare la siringa e riempirla di nuovo con 50 ml di *vinile cloruro R* gassoso. Applicare alla siringa un ago ipodermico e ridurre il volume di gas nella siringa da 50 ml a 25 ml. Iniettare lentamente i rimanenti 25 ml di vinile cloruro nel flaconcino, agitando leggermente ed evitando il contatto fra il liquido e l'ago. Pesare di nuovo il flaconcino; l'aumento di massa è di circa 60 mg (1 µl della soluzione così ottenuta contiene circa 1,2 µg di vinile cloruro). Lasciare a riposo per 2 h. Conservare la soluzione madre in frigorifero.

Vinile cloruro soluzione standard. Ad 1 volume della soluzione madre di vinile cloruro aggiungere 3 volumi di *dimetilacetammide R*.

Soluzioni di riferimento. Introdurre 10,0 ml della soluzione dello standard interno in ciascuno di sei flaconcini da 50 ml. Chiudere i flaconcini e fissare i tappi. Iniettare in cinque flaconcini, rispettivamente, 1 µl, 2 µl, 3 µl, 5 µl e 10 µl della soluzione standard di vinile cloruro. Le sei soluzioni così ottenute contengono, rispettivamente, 0 µg, circa 0,3 µg, 0,6 µg, 0,9 µg, 1,5 µg e 3 µg di vinile cloruro. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre i flaconcini a b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 3 m e con un diametro interno di 3 mm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con il 5 per cento *m/m* di *dimetilstearylammide R* e con il 5 per cento *m/m* di *macrogol 400 R*,
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di 30 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 45 °C, quella della camera di iniezione a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Iniettare 1 ml dello spazio di testa di ciascun flaconcino. Calcolare il contenuto di vinile cloruro.

Additivi. Un certo numero di additivi viene addizionato ai polimeri per ottimizzare le loro caratteristiche chimiche, fisiche e meccaniche e così renderli più adatti all'uso previsto. Tutti questi additivi sono scelti dalla lista seguente che specifica per ogni prodotto il quantitativo massimo permesso:

- non più del 40 per cento di di(2-etilesil)ftalato (additivo per plastica 01),
- non più dell'1 per cento di zinco ottanoato (zinco 2-etilesanoato) (additivo per plastica 02),
- non più dell'1 per cento di calcio stearato o di zinco stearato o dell'1 per cento di una miscela dei due,
- non più dell'1 per cento di *N,N'*-diaciletilendiammine (additivo per plastica 03),
- non più del 10 per cento di uno dei due oli epossidati seguenti o non più del 10 per cento di una loro miscela:
 - olio di soia epossidato (additivo per plastica 04), il cui titolo in ossigeno ossiranico è compreso tra il 6 per cento e l'8 per cento e il cui indice di iodio non è superiore a 6,
 - olio di lino epossidato (additivo per plastica 05), il cui titolo in ossigeno ossiranico non è superiore al 10 per cento e il cui indice di iodio non supera il 7.

Quantità molto piccole di antiossidanti aggiunti al monomero vinile cloruro possono essere presenti nel polimero.

Nessun additivo antiossidante può essere aggiunto al polimero.

Il blu ultramarino è l'unico colorante che può essere aggiunto.

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Polvere, palline, granuli o, dopo trasformazione, lamine traslucide di spessore variabile o contenitori, incolori o giallo pallido con un leggero odore. Per combustione produce un fumo nero e denso.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

A 2,0 g del materiale in esame aggiungere 200 ml di *etere esente da perossidi R* e scaldare a ricadere per 8 h. Separare per filtrazione il residuo B e la soluzione A.

Evaporare a secco la soluzione A a pressione ridotta su b.m. a 30 °C. Disciogliere il residuo in 10 ml di *toluene R* (soluzione A1). Disciogliere il residuo B in 60 ml di *dicloroetano R*, scaldando a ricadere su b.m. Filtrare. Aggiungere la soluzione, goccia a goccia e agitando energicamente, a 600 ml di *eptano R* scaldato quasi all'ebollizione. Separare il coagulo B1 dalla soluzione organica per filtrazione a caldo. Lasciare raffreddare quest'ultima; separare il precipitato B2 che si forma e filtrare attraverso un filtro di vetro poroso tarato (40).

A. Disciogliere il coagulo B1 in 30 ml di *tetraidrofurano R* e aggiungere, poco per volta e agitando, 40 ml di *etanolo R*. Separare per filtrazione il precipitato B3 e seccare sotto vuoto su *anidride fosforica R* a una temperatura non superiore a 50 °C. Disciogliere pochi milligrammi di precipitato B3 in 1 ml di *tetraidrofurano R*, mettere poche gocce della soluzione ottenuta su una lamina di sodio cloruro ed evaporare a secco in stufa a 100-105 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *polivinile cloruro SCR*.

B. Esaminare il residuo C ottenuto nel saggio degli additivi per plastica 01, 04 e 05 mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con l'*additivo per plastica 01 SCR*.

SAGGI

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 5,0 g del materiale in esame in un matraccio da combustione. Aggiungere 30 ml di *acido solforico R* e scaldare fino ad ottenere una massa sciropposa nera. Raffreddare ed aggiungere, con cautela, 10 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*. Scaldare leggermente. Lasciar raffreddare ed aggiungere 1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*; ripetere alternando l'evaporazione e l'aggiunta di idrogeno perossido soluzione fino ad ottenere un liquido incolore. Concentrare fino a circa 10 ml, raffreddare e diluire a 50,0 ml con *acqua R*.

Soluzione S₂. Introdurre 25 g del materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato. Aggiungere 500 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* e coprire il collo del pallone con un recipiente di vetro borosilicato. Scaldare in autoclave a 121 ± 2 °C per 20 min. Lasciar raffreddare e decantare la soluzione. Riportare il volume a 500 ml.

Aspetto della soluzione S₂. La soluzione S₂ è limpida (2.2.1) ed incolore (Metodo II, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S₂, aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non sono necessari più di 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. A 100 ml di soluzione S₂ aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1,0 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza (2.2.25). Evaporare a secco 100 ml di soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di *esano R*. L'assorbanza, a lunghezza d'onda compresa tra 250 nm e 310 nm, non è superiore a 0,25.

Sostanze riducenti. Effettuare il saggio entro 4 h dalla preparazione della soluzione S₂. A 20,0 ml di soluzione S₂ aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Bollire a ricadere per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco usando 20 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. La differenza fra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 2,0 ml.

Ammine aromatiche primarie. A 2,5 ml di soluzione A1, ottenuta durante l'identificazione, aggiungere 6 ml di *acqua R* e 4 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Agitare energicamente ed eliminare la fase superiore. Alla fase acquosa aggiungere 0,4 ml di una soluzione (10 g/l) di

sodio nitrito R preparata di recente. Mescolare e lasciare a riposo per 1 min. Aggiungere 0,8 ml di una soluzione (25 g/l) di *ammonio solfammato R*. Lasciare a riposo per 1 min e aggiungere 2 ml di una soluzione (5 g/l) di *naftiletildiammina dicloridrato R*. Dopo 30 min, l'eventuale colorazione della soluzione non è più intensa di quella di una preparazione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo utilizzando, al posto della fase acquosa, una miscela di 1 ml di una soluzione (0,01 g/l) di *naftilammmina R* in *acido cloridrico 0,1 M*, 5 ml di *acqua R* e 4 ml di *acido cloridrico 0,1 M* (20 ppm).

Additivi per plastica 01, 04 e 05. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*, di 1 mm di spessore.

Soluzioni di riferimento. Preparare soluzioni con 0,1 mg/ml di *additivo per plastica 01 SCR*, *additivo per plastica 04 SCR* e *additivo per plastica 05 SCR* rispettivamente, in *toluene R*.

Deporre sulla lastra, come una banda di 30 mm per 3 mm, 0,5 ml della soluzione A1, ottenuta durante l'identificazione. Deporre sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 15 cm usando *toluene R*. Seccare accuratamente la lastra. Esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm e localizzare la zona corrispondente all'additivo per plastica 01 (R_f circa 0,4). Rimuovere l'area di gel di silice corrispondente a questa zona e agitare con 40 ml di *etere R* per 1 min. Filtrare, sciacquare con due porzioni, ciascuna di 10 ml, di *etere R*, aggiungere i liquidi di risciacquo al filtrato ed evaporare a secco. Il residuo C pesa non più di 40 mg.

Esporre la lastra ai vapori di iodio per 5 min. Esaminare il cromatogramma e localizzare la banda corrispondente agli additivi per plastica 04 e 05 ($R_f = 0$). Prelevare l'area di gel di silice corrispondente a questa banda. Allo stesso modo, prelevare un'area corrispondente di gel di silice come bianco. Agitare separatamente entrambi i campioni per 15 min con 40 ml di *metanolo R*. Filtrare, sciacquare con due porzioni, ciascuna di 10 ml, di *metanolo R*, aggiungere i liquidi di risciacquo al filtrato ed evaporare a secco. La differenza fra le masse non è superiore a 10 mg.

Additivo per plastica 03. Lavare il precipitato B2 ottenuto durante l'identificazione e trattenuto sul filtro di vetro sinterizzato tarato (40) con *etanolo R*. Seccare a massa costante su *anidride fosforica R* e pesare il filtro. Il precipitato pesa non più di 20 mg.

Esaminare il residuo mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con l'*additivo per plastica 03 SCR*.

Bario. Non più di 5,0 ppm di Ba, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Calcinare 1,0 g di materiale in esame in un crogiolo di silice. Riprendere il residuo con 10 ml di *acido cloridrico R* ed evaporare a secco a b.m. Riprendere il residuo con 20 ml di *acido cloridrico 0,1 M*.

Soluzione di riferimento. E' una soluzione contenente 0,25 ppm di bario preparata per diluizione di una *soluzione standard di bario (Ba 50 ppm) R* con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del bario a 455,40 nm, valutando il fondo spettrale a 455,30 nm.

Verificare l'assenza di bario nell'acido cloridrico usato.

Cadmio. Non più di 0,6 ppm di Cd, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Evaporare a secco 10 ml della soluzione S₁. Riprendere il residuo con 5 ml di una soluzione all'1 per cento V/V di *acido cloridrico R*, filtrare e diluire il filtrato a 10,0 ml con lo stesso acido.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando una *soluzione standard di cadmio (Cd 0,1 per cento) R* diluita con una soluzione all'1 per cento V/V di *acido cloridrico R*.

Misurare l'assorbanza a 228,8 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al cadmio ed una fiamma aria-acetilene.

Verificare l'assenza di cadmio nell'acido cloridrico usato.

Calcio. Non più dello 0,07 per cento di Ca, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione in esame preparata per la determinazione del bario.

Soluzione di riferimento. Preparare la soluzione di riferimento contenente 50,0 ppm di calcio per diluizione di una *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R* con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del calcio a 315,89 nm, valutando il fondo spettrale a 315,60 nm.

Verificare l'assenza di calcio nell'acido cloridrico usato.

Stagno. Non più di 20 ppm di Sn, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon. (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire la soluzione S₁ dieci volte con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Soluzione di riferimento. Introdurre 2 ml di una *soluzione standard di stagno (Sn 5 ppm) R* in un pallone da 50 ml contenente 5 ml di una soluzione al 20 per cento V/V di *acido solforico R* e diluire a 50 ml con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Effettuare la determinazione usando l'emissione dello stagno a 189,99 nm, valutando il fondo spettrale a 190,10 nm.

Verificare l'assenza di stagno nell'acido solforico usato.

Zinco. Non più dello 0,20 per cento di Zn, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire la soluzione S₁ 100 volte con *acido cloridrico 0,1 M*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando una *soluzione standard di zinco (Zn 100 ppm) R* diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Misurare l'assorbanza a 213,9 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo allo zinco ed una fiamma aria-acetilene.

Verificare l'assenza di zinco nell'acido cloridrico usato.

Metalli pesanti (2.4.8). A 10 ml della soluzione S₁ aggiungere 0,5 ml di *fenoltaleina soluzione R* e poi *sodio idrossido soluzione concentrata R* fino a debole colorazione rosa. Diluire a 25 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (50 ppm). Preparare la soluzione di riferimento usando una *soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm) R*.

Sostanze estraibili in acqua. Evaporare 50 ml della soluzione S₂ a secco su b.m. ed essiccare in stufa a 100-105 °C fino a massa costante. Effettuare un saggio in bianco con 50,0 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. Il residuo pesa non più di 7,5 mg (0,3 per cento) considerando il saggio in bianco.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Eseguire il metodo della combustione in ossigeno (2.5.10) usando 50,0 mg. Far assorbire i prodotti di combustione in 20 ml di *sodio idrossido 1 M*. Alla soluzione ottenuta aggiungere 2,5 ml di *acido nitrico R*, 10,0 ml di *argento nitrato 0,1M*, 5 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* ed 1 ml di *dibutile ftalato R*. Titolare con *ammonio tiocianato 0,05M* fino a colorazione giallo-rossastra. Effettuare una determinazione in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 6,25 mg di polivinile cloruro.

In più, i saggi seguenti si eseguono su contenitori sterili e vuoti.

Soluzione S₃. Se il contenitore in esame contiene una soluzione anticoagulante, vuotare il contenitore e lavare l'interno con 250 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* a 20 ± 1 °C e scartare l'acqua di lavaggio prima di preparare la soluzione S₃. Introdurre nel contenitore un volume di *acqua per preparazioni iniettabili R* corrispondente al volume della soluzione. Chiudere il contenitore e scaldarlo in autoclave in modo tale che la temperatura del liquido si mantenga a 110 °C per 30 min. Dopo raffreddamento, riempire il contenitore con *acqua per preparazioni iniettabili R* al suo volume nominale e omogeneizzare.

Soluzione di riferimento. Scaldare *acqua per preparazioni iniettabili R* in un pallone di vetro borosilicato in autoclave a 110 °C per 30 min.

Sostanze riducenti. Immediatamente dopo la preparazione della soluzione S₃, trasferire un volume corrispondente all'8 per cento del volume nominale del contenitore in un pallone di vetro borosilicato. Nello stesso tempo, preparare il bianco usando un uguale volume di una soluzione di riferimento preparata di recente in un altro pallone di vetro borosilicato. Aggiungere, ad ogni soluzione, 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M* e 1 ml di *acido solforico diluito R*. Lasciare a riposo proteggendo dalla luce per 15 min. A ciascuna soluzione aggiungere 0,1 g di *potassio ioduro R*. Lasciare a riposo proteggendo dalla luce per 5 min e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. La differenza tra le due titolazioni non è superiore a 2,0 ml.

Acidità o alcalinità. Ad un volume di soluzione S₃, corrispondente al 4 per cento della capacità nominale del contenitore, aggiungere 0,1 ml di *fenolftaleina soluzione R*. La soluzione rimane incolore. Aggiungere 0,4 ml di *sodio idrossido 0,01 M*. La soluzione diventa rosa. Aggiungere 0,8 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e 0,1 ml di *metilarancio soluzione R*. La soluzione è arancio-rossa o rossa.

Cloruri (2.4.4). 15 ml di soluzione S₃ soddisfano al saggio limite dei cloruri (0,4 ppm). Preparare la soluzione standard usando una miscela di 1,2 ml di una *soluzione standard di cloruro (Cl 5 ppm) R* e 13,8 ml di *acqua R*.

Ammonio (2.4.1). Diluire 5 ml di soluzione S₃ a 14 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite A per l'ammonio (2 ppm).

Sostanze estraibili in acqua. Evaporare 100 ml della soluzione S₃ a secco a b.m. Essiccare in stufa da 100 °C a 105 °C fino a massa costante. Effettuare un saggio in bianco con 100 ml della soluzione di riferimento. Il residuo della soluzione S₃ pesa non più di 3 mg, considerando il saggio in bianco.

Assorbanza (2.2.25). Misurare l'assorbanza della soluzione S₃ tra 230 nm e 360 nm, usando la soluzione di riferimento come liquido di compensazione. Alle lunghezze d'onda tra 230 nm e 250 nm, l'assorbanza non è superiore a 0,30. Alle lunghezze d'onda tra 251 nm e 360 nm, l'assorbanza non è superiore a 0,10.

Additivo per plastica 01 estraibile. Usare, come solvente di estrazione, *etanolo R* diluito con *acqua R* per ottenere una densità relativa (2.2.5) tra 0,9389 e 0,9395, misurata con un densimetro.

Soluzione madre. Disciogliere 0,100 g di *additivo per plastica 01 SCR* nel solvente di estrazione e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzioni standard:

- Diluire 20,0 ml della soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione,
- Diluire 10,0 ml della soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione,
- Diluire 5,0 ml della soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione,
- Diluire 2,0 ml della soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione,
- Diluire 1,0 ml della soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle soluzioni standard al massimo di assorbimento a 272 nm, usando il solvente di estrazione come liquido di compensazione e tracciare la curva dell'assorbanza in funzione della concentrazione di additivo per plastica 01.

Procedimento di estrazione. Usando il deflussore e l'ago o l'adattatore, riempire il contenitore vuoto con un volume uguale alla metà del volume nominale con il solvente di estrazione, precedentemente riscaldato a 37 °C in un pallone ben chiuso. Espellere completamente l'aria dal contenitore e chiudere ermeticamente il deflussore. Immergere il contenitore riempito in posizione orizzontale in un b.m. mantenuto a 37 ± 1 °C per 60 ± 1 min senza agitazione. Rimuovere il contenitore dal b.m., invertirlo cautamente per dieci volte e trasferire il contenuto in un pallone di vetro. Misurare immediatamente l'assorbanza al massimo di assorbimento a 272 nm, usando il solvente di estrazione come liquido di compensazione.

Determinare la concentrazione dell'additivo per plastica 01 in milligrammi per 100 ml di estratto dalla curva di taratura. La concentrazione non è superiore a:

- 10 mg per 100 ml per contenitori con un volume nominale maggiore di 300 ml ma non superiore a 500 ml;

Materiali a base di polivinile cloruro plastif. per tubi usati per la trasfusione di sangue e sue frazioni

- 13 mg per 100 ml per contenitori con un volume nominale maggiore di 150 ml ma non superiore a 300 ml;
- 14 mg per 100 ml per contenitori con un volume nominale fino a 150 ml.

Quando i contenitori contengono una soluzione anticoagulante, la soluzione soddisfa alla monografia su Soluzioni anticoagulanti e conservanti per sangue umano (0209) e al seguente saggio addizionale.

Assorbanza (2.2.25). Misurare l'assorbanza della soluzione anticoagulante del contenitore tra 250 nm e 350 nm, usando, come liquido di compensazione, una soluzione anticoagulante con la stessa composizione ma che non sia venuta a contatto con un materiale plastico. L'assorbanza al massimo di assorbimento a 280 nm non è superiore a 0,5.

3.1.1.2. MATERIALI A BASE DI POLIVINILE CLORURO PLASTIFICATO PER TUBI USATI PER LA TRASFUSIONE DI SANGUE E SUE FRAZIONI

DEFINIZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato per apparati tubolari utilizzati per la trasfusione del sangue e sue frazioni contengono non meno del 55 per cento di polivinile cloruro plastificato con di(2-etilesil)ftalato (additivo per plastica 01).

PRODUZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato sono prodotti con metodi di polimerizzazione che assicurano un residuo di vinile cloruro inferiore a 1 ppm. Il metodo utilizzato per la produzione è validato per dimostrare che il prodotto soddisfa al seguente saggio:

Vinile cloruro. Non più di 1 ppm, determinato con gas cromatografia a spazio di testa (2.2.28), utilizzando *eteri R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Utilizzando una microsiringa, iniettare 10 µl di *eteri R* in 20,0 ml di *dimetilacetammide R*, immergendo la punta dell'ago nel solvente. Immediatamente prima dell'uso, diluire la soluzione a 1000 volte il suo volume con *dimetilacetammide R*.

Soluzione in esame. Introdurre 1,000 g del materiale in esame in un flaconcino da 50 ml ed aggiungere 10,0 ml della soluzione dello standard interno. Chiudere il flaconcino e fissare il tappo. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre il flaconcino a b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Soluzione madre di vinile cloruro. Preparare sotto cappa ventilata. Introdurre 50,0 ml di *dimetilacetammide R* in un flaconcino da 50 ml, chiudere il flaconcino, fissare il tappo e pesare con la precisione di 0,1 mg. Riempire una siringa di polietilene o di polipropilene da 50 ml con *vinile cloruro R* gassoso, lasciare che il gas rimanga a contatto con la siringa per circa 3 min, vuotare la siringa e riempirla di nuovo con 50 ml di *vinile cloruro R* gassoso. Applicare alla siringa un ago ipodermico e ridurre il volume di gas nella siringa da 50 ml a 25 ml. Iniettare lentamente i rimanenti 25 ml di *vinile cloruro* nel flaconcino, agitando leggermente ed evitando il contatto fra il liquido e l'ago. Pesare di nuovo il flaconcino; l'aumento di massa è di circa 60 mg (1 µl della soluzione così ottenuta contiene circa 1,2 µg di *vinile cloruro*). Lasciare riposare per 2 h. Conservare la soluzione madre in frigorifero.

Soluzione standard di vinile cloruro. Ad 1 volume della soluzione madre di *vinile cloruro* aggiungere 3 volumi di *dimetilacetammide R*.

Soluzioni di riferimento. Introdurre 10,0 ml della soluzione dello standard interno in ciascuno di sei flaconcini da 50 ml. Chiudere i flaconcini e fissare i tappi. Iniettare in cinque flaconcini, rispettivamente, 1 µl, 2 µl, 3 µl, 5 µl e 10 µl della soluzione standard di *vinile cloruro*. Le sei soluzioni così ottenute contengono, rispettivamente, 0 µg, circa 0,3 µg, 0,6 µg, 0,9 µg, 1,5 µg e 3 µg di *vinile cloruro*. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre i flaconcini a b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 3 m e con un diametro interno di 3 mm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con il 5 per cento m/m di *dimetilstearylammide R* e con il 5 per cento m/m di *macrocol 400 R*,
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di 30 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 45 °C, quella della camera di iniezione a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Iniettare 1 ml dello spazio di testa di ciascun flaconcino. Calcolare il contenuto di *vinile cloruro*.

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Materiale praticamente incolore o giallo pallido, che si presenta sotto forma di polvere, palline, granuli o, dopo trasformazione, tubi con un leggero odore. Per combustione produce un fumo nero e denso.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

- A. A 0,5 g aggiungere 30 ml di *tetraidrofurano R*. Scaldare a b.m., agitando sotto cappa per 10 min. Il materiale si scioglie completamente. Aggiungere, agitando, *metanolo R* goccia a goccia. Si forma un precipitato granulare. Filtrare ed essiccare il precipitato a 60 °C. Esaminare il precipitato mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Disciogliere 50 mg in 2 ml di *tetraidrofurano R* e versare su un vetrino. Seccare in stufa a 80 °C, staccare la pellicola e fissarla su un adatto supporto. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con il *polivinile cloruro SCR*.
- B. Esaminare il residuo ottenuto nel saggio «Additivo per plastica 01» mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con l'*additivo per plastica 01 SCR*.

SAGGI

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 5,0 g del materiale in esame in un matraccio da combustione. Aggiungere 30 ml di *acido solforico R* e scaldare fino ad ottenere una massa sciropposa nera. Raffreddare ed aggiungere, con cautela, 10 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*. Scaldare leggermente. Lasciar raffreddare ed aggiungere 1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*; ripetere alternando l'evaporazione e l'aggiunta di idrogeno perossido soluzione fino ad ottenere un liquido incolore. Concentrare fino a circa 10 ml. Raffreddare e diluire a 50,0 ml con *acqua R*.

Soluzione S₂. Introdurre 25 g del materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato. Aggiungere 500 ml di *acqua R* e coprire il collo del pallone con un recipiente

di vetro borosilicato. Scaldare in autoclave a 121 ± 2 °C per 20 min. Lasciar raffreddare e decantare la soluzione e riportare il volume a 500 ml.

Aspetto della soluzione S₂. La soluzione S₂ è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Additivo per plastica 01. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una lastra di *gel di silice G R*.

Soluzione in esame. A 2,0 g del materiale in esame aggiungere 200 ml di *etere esente da perossidi R* e scaldare a ricadere per 8 h. Separare il residuo e la soluzione mediante filtrazione ed evaporare la soluzione a secco a pressione ridotta su b.m. a 30 °C. Disciogliere il residuo in 10 ml di *toluene R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,8 g di *additivo per plastica 01 SCR* in *toluene R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre, separatamente, sulla lastra come una banda di 30 mm per 3 mm, 0,5 ml della soluzione in esame e 5 µl della soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 15 cm usando *toluene R*. Seccare accuratamente la lastra. Esaminare il cromatogramma ottenuto alla luce ultravioletta a 254 nm e localizzare la zona corrispondente all'additivo per plastica 01. Rimuovere l'area di gel di silice corrispondente a questa zona e agitare con 40 ml di *etere R*. Filtrare senza perdite ed evaporare a secco. Il residuo non pesa più di 40 mg.

Bario. Non più di 5,0 ppm di Ba, determinato mediante spettrometria atomica di emissione in plasma di argon (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Calcinare 1,0 g di materiale in esame in un crogiolo di silice. Riprendere il residuo con 10 ml di *acido cloridrico R* ed evaporare a secco su b.m. Riprendere il residuo con 20 ml di *acido cloridrico 0,1 M*.

Soluzione di riferimento. Soluzione contenente 0,25 ppm di bario preparata per diluizione di una *soluzione standard di bario (Ba 50 ppm) R* con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del bario a 455,40 nm, fissando il fondo spettrale a 455,30 nm.

Verificare l'assenza di bario nell'acido cloridrico usato.

Cadmio. Non più di 0,6 ppm di Cd, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Evaporare a secco 10,0 ml della soluzione S₁. Riprendere il residuo con 5 ml di una soluzione all'1 per cento V/V di *acido cloridrico R*, filtrare e diluire il filtrato a 10,0 ml con lo stesso acido.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando una *soluzione standard di cadmio (Cd 0,1 per cento) R* diluita con una soluzione all'1 per cento *V/V* di *acido cloridrico R*.

Misurare l'assorbanza a 228,8 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al cadmio ed una fiamma aria-acetilene.

Verificare l'assenza di cadmio nell'acido cloridrico usato.

Stagno. Non più di 20,0 ppm di Sn, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire la soluzione S_1 dieci volte con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Soluzione di riferimento. Introdurre 2 ml di una *soluzione standard di stagno (Sn 5 ppm) R* in un pallone tarato da 50 ml contenente 5 ml di una soluzione al 20 per cento *V/V* di *acido solforico R* e portare a 50 ml con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Effettuare la determinazione usando l'emissione dello stagno a 189,99 nm, valutando il fondo spettrale a 190,10 nm.

Verificare l'assenza di stagno nell'acido solforico usato.

Metalli pesanti (2.4.8). A 10 ml di soluzione S_1 aggiungere 0,5 ml di *fenoltaleina soluzione R* e poi *sodio idrossido soluzione concentrata R* fino a debole colorazione rosa. Diluire a 25 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (50 ppm). Preparare la soluzione standard usando una *soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm) R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 0,500 g aggiungere 30 ml di *tetraidrofurano R* e scaldare a b.m., agitando sotto cappa per 10 min. Il materiale si scioglie completamente. Aggiungere 60 ml di *metanolo R* goccia a goccia agitando. Si forma un precipitato granuloso di polivinile cloruro. Lasciar riposare per pochi minuti. Continuare ad aggiungere *metanolo R* finché non si osserva più ulteriore precipitazione. Trasferire su un filtro di vetro sinterizzato (40), utilizzando tre piccole quantità di *metanolo R* per aiutare il trasferimento e per lavare il precipitato. Essiccare il filtro e il precipitato a 60 °C fino a massa costante e pesare.

In aggiunta, eseguire i saggi che seguono sulle apparecchiature sterilizzate.

Soluzione S_3 . Realizzare un sistema a circolazione chiusa con tre deflussori e un recipiente di vetro borosilicato da 300 ml. Applicare al recipiente un dispositivo

termostatico che mantenga la temperatura del liquido del recipiente a 37 ± 1 °C. Far circolare 250 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* attraverso il sistema nella direzione usata per la trasfusione per 2 h alla velocità di 1 litro all'ora (per esempio usando una pompa peristaltica applicata mediante un tubo di gomma di silicone il più corto possibile). Raccogliere tutta la soluzione e lasciare raffreddare.

Aspetto della soluzione. La soluzione S_3 è limpida (*2.2.1*) ed incolore (*Metodo II, 2.2.2*).

Acidità o alcalinità. A 25 ml di soluzione S_3 , aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non sono necessari più di 0,5 ml di *sodio idrossido soluzione 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. A 25 ml di soluzione S_3 aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Non sono necessari più di 0,5 ml di *acido cloridrico 0,01 M* perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio.

Assorbanza (2.2.25). Misurata tra 230 nm e 250 nm, l'assorbanza della soluzione S_3 non è maggiore di 0,30. Misurata tra 251 nm e 360 nm, l'assorbanza della soluzione S_3 non è maggiore di 0,15.

Sostanze riducenti. Effettuare il saggio entro 4 h dalla preparazione della soluzione S_3 . A 20,0 ml della soluzione S_3 aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Far bollire per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. Effettuare un saggio in bianco usando 20 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. La differenza tra i volumi delle due titolazioni non è superiore a 2,0 ml.

Sostanze estraibili in acqua. Evaporare 50,0 ml della soluzione S_3 a secco a b.m. ed essiccare in stufa da 100 °C a 105 °C fino a massa costante. Effettuare un saggio in bianco con 50,0 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. Il residuo della soluzione S_3 ottenuto pesa non più di 1,5 mg, tenendo conto del saggio in bianco.

3.1.3. POLIOLEFINE

DEFINIZIONE

Le poliolefine si ottengono per polimerizzazione dell'etilene o del propilene o per copolimerizzazione di queste sostanze con non più del 25 per cento di omologhi superiori (da C_4 a C_{10}) o di acidi carbossilici o di esteri. Alcuni materiali possono essere miscele di poliolefine.

PRODUZIONE

Un certo numero di additivi sono addizionati al polimero per migliorare le sue caratteristiche chimiche, fisiche e meccaniche e renderlo così più adatto all'uso previsto. Tutti questi additivi sono scelti dalla lista seguente che specifica, per ciascun prodotto, il contenuto massimo consentito.

Le poliolefine possono contenere al massimo tre antiossidanti, uno o più lubrificanti o agenti antibloccanti come pure titanio diossido come agente opacizzante, se il materiale deve proteggere dalla luce.

- butilidrossitoluene (additivo per plastica 07) (non più dello 0,125 per cento),
- pentaeritritile tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil) propionato] (additivo per plastica 09) (non più dello 0,3 per cento),
- 1,3,5-tris(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossibenzil)-*s*-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione (additivo per plastica 13) (non più dello 0,3 per cento),
- ottadecile 3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil)propionato (additivo per plastica 11) (non più dello 0,3 per cento),
- etilene bis [3,3-bis(3-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil) butanoato] (additivo per plastica 08) (non più dello 0,3 per cento),
- diottadecil disulfuro (additivo per plastica 15) (non più dello 0,3 per cento),
- 4,4',4''-(2,4,6 - trimetilbenzene - 1,3,5 - triiltrimetilen)trio [2,6-bis(1,1-dimetiletil)fenolo] (additivo per plastica 10) (non più dello 0,3 per cento),
- 2,2'-bis(ottadecilossi)-5,5'-spirobi(1,3,2-dioxafosforinano) (additivo per plastica 14) (non più dello 0,3 per cento),
- didodecile-3,3'-tiodipropionato (additivo per plastica 16) (non più dello 0,3 per cento),
- diottadecile-3,3'-tiodipropionato (additivo per plastica 17) (non più dello 0,3 per cento),
- tris[2,4-bis(1,1-dimetiletil)fenil]fosfito (additivo per plastica 12) (non più dello 0,3 per cento),
- additivo per plastica 18 (non più dello 0,1 per cento),
- copolimero del dimetil succinato e (4-idrossi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)etanolo (additivo per plastica 22) (non più dello 0,3 per cento),

Il totale degli additivi antiossidanti sopra elencati non supera lo 0,3 per cento.

- idrotalcite (non più dello 0,5 per cento),
- alcanammidi (non più dello 0,5 per cento),

- alchenammidi (non più dello 0,5 per cento),
- sodio silico-alluminato (non più dello 0,5 per cento),
- silice (non più dello 0,5 per cento),
- sodio benzoato (non più dello 0,5 per cento),
- esteri o sali di acidi grassi (non più dello 0,5 per cento),
- fosfato trisodico (non più dello 0,5 per cento),
- paraffina liquida (non più dello 0,5 per cento),
- zinco ossido (non più dello 0,5 per cento),
- talco (non più dello 0,5 per cento),
- magnesio ossido (non più dello 0,5 per cento),
- calcio o zinco stearato o una miscela di entrambi (non più dello 0,5 per cento),
- titanio diossido (non più del 4 per cento).

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Polvere, palline, granuli o, dopo trasformazione, lamine di spessore variabile o contenitori. Materiale praticamente insolubile in acqua, solubile a caldo negli idrocarburi aromatici, praticamente insolubile in etanolo, in esano e in metanolo. Rammollisce a temperature comprese tra 65 °C e 165 °C. Brucia con una fiamma blu.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

- A. A 0,25 g aggiungere 10 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per circa 15 min. Deporre alcune gocce della soluzione ottenuta su una finestra di sodio cloruro ed evaporare il solvente in stufa a 80 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro del materiale in esame mostra massimi di assorbimento in particolare a 2920 cm⁻¹, 2850 cm⁻¹, 1475 cm⁻¹, 1465 cm⁻¹, 1380 cm⁻¹, 1170 cm⁻¹, 735 cm⁻¹, 720 cm⁻¹; lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il materiale selezionato come campione tipo. Se la sostanza in esame si presenta sotto forma di lamine, lo spettro può essere ottenuto direttamente su un frammento di dimensione appropriata.
- B. Soddisfa ai saggi supplementari corrispondenti agli additivi presenti.

C. In un crogiolo di platino mescolare circa 20 mg con 1 g di *potassio solfato acido R* e scaldare fino a fusione completa. Lasciar raffreddare ed aggiungere 20 ml di *acido solforico diluito R*. Scaldare leggermente e filtrare la soluzione ottenuta. Aggiungere al filtrato 1 ml di *acido fosforico R* e 1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*. Se la sostanza è opacizzata con titanio diossido, si sviluppa una colorazione giallo-arancio.

SAGGI

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

Soluzione S₁. Utilizzare la soluzione S₁ entro 4 h dalla preparazione. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 500 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* e bollire a ricadere per 5 h. Lasciar raffreddare e decantare. Conservare una porzione della soluzione per il saggio dell'aspetto della soluzione S₁ e filtrare la parte rimanente attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2).

Soluzione S₂. Introdurre 2,0 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 80 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per 90 min agitando costantemente. Lasciar raffreddare a 60 °C e aggiungere, continuando l'agitazione, 120 ml di *metanolo R*. Filtrare la soluzione attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2). Lavare la beuta e il filtro con 25 ml di una miscela di 40 ml di *toluene R* e 60 ml di *metanolo R*, aggiungere i lavaggi al filtrato e diluire a 250 ml con la stessa miscela di solventi. Preparare una soluzione come bianco.

Soluzione S₃. Introdurre 100 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 250 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e bollire a ricadere per 1 h agitando costantemente. Lasciar raffreddare e decantare la soluzione.

Aspetto della soluzione S₁. La soluzione S₁ è limpida (2.2.1) e incolore (Metodo II, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S₁, aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non sono necessari più di 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. A 100 ml di soluzione S₁ aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza della soluzione S₁ misurata a lunghezze d'onda tra 220 nm e 340 nm non è maggiore di 0,2.

Sostanze riducenti. A 20 ml della soluzione S₁ aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Far bollire a ricadere per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco. La differenza tra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 3,0 ml.

Sostanze solubili in esano. Introdurre 10 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio da 250 ml. Aggiungere 100 ml di *esano R* e bollire a ricadere per 4 h con agitazione costante. Raffreddare in acqua ghiacciata e filtrare rapidamente (il tempo di filtrazione deve essere inferiore a 5 min; se necessario la filtrazione può essere accelerata esercitando una pressione sulla soluzione) attraverso un filtro di vetro poroso (16) mantenendo la soluzione a circa 0 °C. Evaporare a b.m. 20 ml di filtrato in una capsula di vetro borosilicato tarata. Essiccare il residuo in stufa tra 100 °C e 105 °C per 1 h. La massa del residuo ottenuto non deve differire di più del 10 per cento da quella del residuo ottenuto con il campione tipo e non deve superare il 5 per cento.

Alluminio estraibile. Non più di 1,0 ppm di Al estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (Metodo I, 2.2.22).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di alluminio (Al 200 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione dell'alluminio a 396,15 nm, valutando il fondo spettrale a 396,25 nm.

Verificare l'assenza di alluminio nell'acido cloridrico usato.

Titanio estraibile. Non più di 1,0 ppm di Ti estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (Metodo I, 2.2.22).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di titanio (Ti 100 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del titanio a 336,12 nm, valutando il fondo spettrale a 336,16 nm.

Verificare l'assenza di titanio nell'acido cloridrico usato.

Zinco estraibile. Non più di 1,0 ppm di Zn estraibile, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico in plasma di argon (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di zinco (Zn 10 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Misurare l'assorbanza a 213,9 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo allo zinco ed una fiamma aria-acetilene.

Verificare l'assenza di zinco nell'acido cloridrico usato.

Metalli pesanti estraibili (2.4.8). Evaporare a b.m. 50 ml di soluzione S₃ a circa 5 ml e diluire a 20,0 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (2,5 ppm). Preparare lo standard usando 2,5 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,0 per cento, determinate su 5,0 g. Questo limite non si applica a materiale che è stato opacizzato con titanio diossido.

SAGGI SUPPLEMENTARI

Effettuare questi saggi, in tutto o in parte, soltanto se richiesto dalla composizione riportata o dall'uso previsto per il materiale.

Antiossidanti fenolici. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29)

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm)*,
- come fase mobile una delle quattro miscele seguenti:

Fase mobile 1 ad una velocità di flusso di 2 ml/min: 30 volumi di *acqua R*, 70 volumi di *acetone R*,

Fase mobile 2 ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min: 10 volumi di *acqua R*, 30 volumi di *tetraidrofurano R*, 60 volumi di *acetone R*,

Fase mobile 3 ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min: 5 volumi di *acqua R*, 45 volumi di *2-propanolo R*, 50 volumi di *metanolo R*,

Fase mobile 4 ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min: 20 volumi di *tetraidrofurano R*, 80 volumi di *acetone R*,

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm per le fasi mobili da 1 a 3, e regolato a 270 nm per la fase mobile 4.

Il sistema cromatografico deve assicurare:

- una risoluzione non inferiore a 8,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 07 e all'additivo per plastica 08, con la fase mobile 1,
- una risoluzione non inferiore a 2,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 09 e all'additivo per plastica 10, con la fase mobile 2,
- una risoluzione non inferiore a 2,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 11 e all'additivo per plastica 12, con la fase mobile 3,
- una risoluzione non inferiore a 6,0 tra i due picchi principali (tempo di ritenzione approssimato di 3,5 e 5,8) nel cromatogramma ottenuto con l'additivo per plastica 18, con la fase mobile 4.

Soluzione in esame S₂₁. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Preparare una soluzione in bianco a partire dalla soluzione in bianco corrispondente alla soluzione S₂.

Soluzione in esame S₂₂. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di *diclorometano R*. Preparare una soluzione in bianco a partire dalla soluzione in bianco corrispondente alla soluzione S₂.

Soluzione in esame S₂₃. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e una soluzione (10 g/l) di *tert-butilidroprossido R* in *tetraidrofurano R*. Chiudere la beuta e lasciare a riposo per 1 h. Preparare una soluzione in bianco usando il bianco della soluzione S₂.

Delle seguenti soluzioni di riferimento, preparare solo quelle che sono necessarie per l'analisi degli antiossidanti fenolici riportati nella composizione della sostanza da esaminare.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25,0 mg di *butilidrossitoluene SCR* (additivo per plastica 07) e 60,0 mg di *additivo per plastica 08 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 09 SCR* e 60,0 mg di *additivo per plastica 10 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi

uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 11 SCR* e 60,0 mg di *additivo per plastica 12 SCR* in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (d). Disciogliere 25,0 mg di *additivo per plastica 07 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (e). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 08 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (f). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 13 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (g). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 09 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (h). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 10 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (i). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 11 SCR* in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (j). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 12 SCR* in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (k). Disciogliere 20,0 mg di *additivo per plastica 18 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e una soluzione (10 g/l) di *tert-butilidoperossido R* in *tetraidrofurano R*. Lasciare a riposo in un contenitore chiuso per 1 h. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Se la sostanza in esame contiene l'additivo per plastica 07 e/o l'additivo per plastica 08, usare la fase mobile 1 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₁, 20 µl della corrispondente soluzione di bianco, 20 µl

della soluzione di riferimento (a) e anche 20 µl delle soluzioni di riferimento (d) o (e) oppure 20 µl per ciascuna delle soluzioni di riferimento (d) ed (e).

Se la sostanza in esame contiene uno o più dei seguenti antiossidanti:

- additivo per plastica 09,
- additivo per plastica 10,
- additivo per plastica 11,
- additivo per plastica 12,
- additivo per plastica 13,

usare la fase mobile 2 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₁, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco, 20 µl della soluzione di riferimento (b) e 20 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento degli antiossidanti dell'elenco precedente che sono riportati nella composizione.

Se la sostanza in esame contiene l'additivo per plastica 11 e/o l'additivo per plastica 12, usare la fase mobile 3 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₂, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco, 20 µl della soluzione di riferimento (c) e 20 µl delle soluzioni di riferimento (i) o (j) oppure 20 µl delle soluzioni di riferimento (i) e (j).

Se la sostanza in esame contiene l'additivo per plastica 18, usare la fase mobile 4 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₃, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco e 20 µl della soluzione di riferimento (k).

In tutti i casi, registrare il cromatogramma per 30 min; i cromatogrammi corrispondenti alle soluzioni in esame S₂₁, S₂₂ e S₂₃ presentano solo picchi dovuti agli antiossidanti contenuti nella composizione e picchi minori presenti anche nei cromatogrammi corrispondenti alle soluzioni in bianco. Le aree dei picchi delle soluzioni in esame S₂₁, S₂₂ e S₂₃ sono minori delle aree dei picchi corrispondenti nei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento da (d) a (k).

Antiossidanti non-fenolici. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame S₂₄. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 100 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 2 ml di *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (l). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 14 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (m). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 15 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (n). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 16 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (o). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 17 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (p). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 16 SCR* e 60 mg di *additivo per plastica 17 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl della soluzione in esame S₂₄, 20 µl della soluzione di riferimento (p) e 20 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento corrispondenti a tutti gli antiossidanti, fenolici e non-fenolici, dichiarati nella composizione tipo del materiale da esaminare.

Eluire per un percorso di 18 cm usando *esano R*. Lasciar seccare la lastra. Eluire una seconda volta per un percorso di 17 cm usando *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Spruzzare con *iodio soluzione alcoolica R* ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm dopo 10-15 min. Nessuna macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame S₂₄ è più intensa delle macchie, nelle posizioni corrispondenti, dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento. Il saggio non è valido se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (p) non presenta due macchie nettamente separate.

Additivo per plastica 22. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 25 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 10 ml di *toluene R* e 10 ml di una soluzione (10 g/l) di *tetrabuttilammonio idrossido R* in una miscela di 35 volumi di *toluene R* e 65 volumi di *etanolo R*. Bollire a ricadere per 3 h. Lasciar raffreddare e filtrare se necessario.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 30 mg di *additivo per plastica 22 SCR* in 50 ml di *toluene R*. Aggiungere 1 ml di questa soluzione a 25 ml della soluzione in bianco S₂ ed evaporare a secco sotto vuoto a 45 °C. Disciogliere il residuo in 10 ml di *toluene R* e 10 ml di una soluzione (10 g/l) di *tetrabuttilammonio idrossido R*

in una miscela di 35 volumi di *toluene R* e 65 volumi di *etanolo R*. Bollire a ricadere per 3 h. Lasciar raffreddare e filtrare se necessario.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice amminopropilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile una miscela di 11 volumi di *etanolo R* e 89 volumi di *esano R* ad una velocità di flusso di 2 ml/min,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 227 nm.

Iniettare 20 µl di ciascuna soluzione. Registrare i cromatogrammi per 10 min. Quando i cromatogrammi sono registrati nelle condizioni descritte, la risoluzione tra i picchi corrispondenti rispettivamente al «diolo» e al diluente della soluzione di riferimento è almeno 7.

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, l'area del picco corrispondente al componente «diolo» dell'additivo per plastica 22 è minore di quella del picco corrispondente nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Ammidi e stearati. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando due lastre del tipo *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₂₄ descritta nel saggio per gli antiossidanti non-fenolici.

Soluzione di riferimento (q). Disciogliere 20 mg di acido stearico (*additivo per plastica 19 SCR*) in 10 ml di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (r). Disciogliere 40 mg di oleammide (*additivo per plastica 20 SCR*) in 20 ml di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (s). Disciogliere 40 mg di erucammide (*additivo per plastica 21 SCR*) in 20 ml di *diclorometano R*.

Deporre sulle due lastre 10 µl della soluzione S₂₄. Deporre 10 µl della soluzione di riferimento (q) sulla prima lastra e 10 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (r) ed (s) sulla seconda lastra.

Eluire la prima lastra per un percorso di 10 cm usando una miscela di 25 volumi di *etanolo R* e 75 volumi di *trimetilpentano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *diclorofenolindofenolo sale sodico R* in *etanolo R* e scaldare in stufa a 120 °C per pochi minuti per intensificare le macchie. La macchia corrispondente all'additivo per plastica 19 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione S₂₄ è

identica per posizione (R_f circa 0,5) ma non più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (q).

Eluire la seconda lastra per un percorso di 13 cm usando *esano R*. Eluire una seconda volta per un percorso di 10 cm usando una miscela di 5 volumi di *metanolo R* e 95 volumi di *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra. Spruzzare con una soluzione di 40 g/l di *acido fosfomolibdico R* in *etanolo R*. Scaldare in stufa a 120 °C fino a comparsa delle macchie. Qualunque macchia corrispondente all'additivo per plastica 20 o all'additivo per plastica 21 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame S_{24} è identica per posizione (R_f circa 0,2) ma non è più intensa della macchia corrispondente nei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento (r) ed (s).

3.1.4. POLIETILENE SENZA ADDITIVI PER CONTENITORI PER PREPARAZIONI PARENTERALI ED OFTALMICHE

DEFINIZIONE

Il polietilene senza additivi si ottiene per polimerizzazione dell'etilene sotto alta pressione in presenza di ossigeno o di iniziatori che formano radicali liberi, come catalizzatore.

CARATTERI

Palline, granuli, polvere o, dopo trasformazione, lamine traslucide di spessore variabile o contenitori, praticamente insolubili in acqua, solubili a caldo negli idrocarburi aromatici, praticamente insolubili in etanolo, in esano e in metanolo. Rammollisce a partire da 65 °C.

La densità relativa (2.2.5) del materiale è 0,910-0,937.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

A. A 0,25 g aggiungere 10 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per circa 15 min. Deporre alcune gocce della soluzione ottenuta su una finestra di sodio cloruro ed evaporare il solvente in stufa a 80 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro del materiale in esame mostra massimi di assorbimento in particolare a 2920 - 2850 cm^{-1} , 1465 cm^{-1} , 730 cm^{-1} , 720 cm^{-1} ; lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il materiale selezionato come campione tipo. Se la sostanza in esame si presenta sotto forma di lamine, lo spettro può essere ottenuto direttamente su un frammento di dimensione appropriata.

B. La sostanza in esame soddisfa al saggio per gli additivi presenti (vedere Saggi).

SAGGI

Se necessario tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

Soluzione S_1 . Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 500 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* e bollire a ricadere per 5 h. Lasciar raffreddare e decantare. Conservare una porzione della soluzione per il saggio dell'aspetto della soluzione. Filtrare la parte rimanente attraverso un filtro di vetro poroso (16). *Utilizzare la soluzione S_1 entro 4 h dalla preparazione.*

Soluzione S_2 . Introdurre 2,0 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 80 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per 1 h 30 min agitando costantemente. Lasciar raffreddare a 60 °C e aggiungere, continuando l'agitazione, 120 ml di *metanolo R*. Filtrare la soluzione attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2). Lavare la beuta e il filtro con 25 ml di una miscela di 40 ml di *toluene R* e 60 ml di *metanolo R*, aggiungere i lavaggi al filtrato e diluire a 250 ml con la stessa miscela di solventi. Preparare una soluzione come bianco.

Soluzione S_3 . Introdurre 100 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 250 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e bollire a ricadere per 1 h agitando costantemente. Lasciar raffreddare e decantare la soluzione.

Aspetto della soluzione S_1 . La soluzione S_1 è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S_1 , aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non sono necessari più di 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. A 100 ml di soluzione S_1 aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1,0 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza della soluzione S_1 misurata a lunghezze d'onda tra 220 nm e 340 nm non è maggiore di 0,2.

Sostanze riducenti. A 20 ml della soluzione S_1 aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Far bollire a ricadere per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido solu-*

zione R, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco. La differenza tra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 0,5 ml.

Sostanze solubili in esano. Introdurre 10 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio da 250 ml. Aggiungere 100 ml di *esano R* e bollire a ricadere per 4 h con agitazione costante. Raffreddare in acqua ghiacciata e filtrare rapidamente attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2), mantenendo la soluzione a 0 °C (il tempo di filtrazione deve essere inferiore a 5 min; se necessario la filtrazione può essere accelerata esercitando una pressione sulla soluzione). Evaporare a b.m. 20 ml di filtrato in una capsula di vetro tarata. Essiccare il residuo in stufa tra 100 °C e 105 °C per 1 h. La massa del residuo ottenuto non deve differire di più del 10 per cento da quella del residuo ottenuto con il campione tipo e non deve superare il 5 per cento.

Additivi. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una *lastra di gel di silice G R*.

Soluzione in esame. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5 ml di *diclorometano R*. Preparare una soluzione in bianco dalla soluzione in bianco corrispondente alla soluzione S₂.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg di *additivo per plastica 15 SCR* e 20 mg di *additivo per plastica 08 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 13 cm usando *esano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Eluire una seconda volta per un percorso di 10 cm usando una miscela di 5 volumi di *metanolo R* e 95 volumi di *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria, spruzzare con una soluzione (40 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *etanolo R* e scaldare in stufa a 120 °C fino a comparsa delle macchie nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Non compare alcuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione di una macchia che può trovarsi sul fronte del solvente della prima eluizione e che corrisponde agli oligomeri. Trascurare ogni macchia corrispondente a quelle del cromatogramma ottenuto con la soluzione in bianco. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta due macchie distinte.

Metalli pesanti estraibili (2.4.8). Evaporare a b.m. 50 ml di soluzione S₃ a circa 5 ml e diluire a 20 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (2,5 ppm). Preparare lo standard usando 2,5 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,2 per cento, determinate su 5,0 g.

3.1.5. POLIETILENE CON ADDITIVI PER CONTENITORI PER PREPARAZIONI PARENTERALI ED OFTALMICHE

DEFINIZIONE

Il polietilene con additivi si ottiene per polimerizzazione dell'etilene sotto pressione in presenza di un catalizzatore o per copolimerizzazione dell'etilene con non più del 25 per cento di alcheni omologhi superiori (da C₃ a C₁₀).

PRODUZIONE

Un certo numero di additivi sono addizionati al polimero per migliorare le sue caratteristiche chimiche, fisiche e meccaniche e renderlo così più adatto all'uso previsto. Tutti questi additivi sono scelti dalla lista seguente, che specifica per ciascun prodotto il contenuto massimo consentito.

Possono contenere al massimo tre antiossidanti, uno o più lubrificanti o agenti antibloccanti come pure titanio diossido come agente opacizzante, se il materiale deve proteggere dalla luce.

- butilidrossitoluene (additivo per plastica 07) (non più dello 0,125 per cento),
- pentaeritritile tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil) propionato] (additivo per plastica 09) (non più dello 0,3 per cento),
- 1,3,5-tris(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossibenzil)-*s*-triazin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione (additivo per plastica 13) (non più dello 0,3 per cento),
- ottadecile 3-(3,5-di(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil) propionato (additivo per plastica 11) (non più dello 0,3 per cento),
- etilene bis [3,3-bis[3-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil] butanoato (additivo per plastica 08) (non più dello 0,3 per cento),
- diottadecil disolfuro (additivo per plastica 15) (non più dello 0,3 per cento),
- 4,4',4''-(2,4,6 - trimetilbenzene - 1,3,5 - triiltrimetilen)trio [2,6-bis(1,1-dimetiletil)fenolo] (additivo per plastica 10) (non più dello 0,3 per cento),
- 2,2'-di(ottadecilossi)-5,5'-spirobi(1,3,2-dioxafosforinano) (additivo per plastica 14) (non più dello 0,3 per cento),
- didodecile-3,3'-tiodipropionato (additivo per plastica 16) (non più dello 0,3 per cento),

Polietilene con additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche

- diottadecile-3,3'-tiodipropionato (additivo per plastica 17) (non più dello 0,3 per cento),
- tris [2,4-bis (1,1 - dimetiletil)fenil]fosfito (additivo per plastica 12) (non più dello 0,3 per cento),

Il totale degli additivi antiossidanti sopra elencati non supera lo 0,3 per cento

- idrotalcite (non più dello 0,5 per cento),
- alcanammidi (non più dello 0,5 per cento),
- alchenammidi (non più dello 0,5 per cento),
- sodio silico-alluminato (non più dello 0,5 per cento),
- silice (non più dello 0,5 per cento),
- sodio benzoato (non più dello 0,5 per cento),
- esteri o sali di acidi grassi (non più dello 0,5 per cento),
- fosfato trisodico (non più dello 0,5 per cento),
- paraffina liquida (non più dello 0,5 per cento),
- zinco ossido (non più dello 0,5 per cento),
- magnesio ossido (non più dello 0,2 per cento),
- calcio o zinco stearato o una miscela di entrambi (non più dello 0,5 per cento),
- titanio diossido (non più del 4 per cento) solo per materiali per contenitori per uso oftalmico.

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Polvere, palline, granuli o, dopo trasformazione, lamine traslucide di spessore variabile o contenitori. È praticamente insolubile in acqua, solubile a caldo negli idrocarburi aromatici, praticamente insolubile in etanolo, in esano e in metanolo. Rammollisce a temperature comprese tra 70 °C e 140 °C.

La densità relativa (2.2.5) del materiale è 0,890-0,965.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

- A. A 0,25 g aggiungere 10 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per circa 15 min. Deporre alcune gocce della soluzione ottenuta su una finestra di sodio cloruro ed evaporare il solvente in stufa a 80 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro del materiale in esame mostra massimi di assorbimento in particolare a 2920 - 2850 cm^{-1} , 1465 cm^{-1} , 1375 cm^{-1} ,

1170 cm^{-1} , 730 cm^{-1} , 720 cm^{-1} ; lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il materiale selezionato come campione tipo. Se il materiale in esame si presenta sotto forma di lamine, lo spettro può essere ottenuto direttamente su un frammento di dimensione appropriata.

- B. Soddisfa ai saggi supplementari corrispondenti agli additivi presenti (vedere Saggi).
- C. In un crogiolo di platino mescolare circa 20 mg con 1 g di *potassio solfato acido R* e scaldare fino a fusione completa. Lasciar raffreddare ed aggiungere 20 ml di *acido solforico diluito R*. Scaldare leggermente. Filtrare la soluzione ottenuta. Aggiungere al filtrato 1 ml di *acido fosforico R* e 1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*. Se la sostanza è opacizzata con titanio diossido, si sviluppa una colorazione giallo-arancio.

SAGGI

Se necessario tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 500 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* e bollire a ricadere per 5 h. Lasciar raffreddare e decantare. Conservare una porzione della soluzione per il saggio dell'aspetto della soluzione e filtrare la parte rimanente attraverso un filtro di vetro poroso (16). *Utilizzare entro 4 h dalla preparazione.*

Soluzione S₂. Introdurre 2,0 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 80 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per 90 min agitando costantemente. Lasciar raffreddare a 60 °C e aggiungere, continuando l'agitazione, 120 ml di *metanolo R*. Filtrare la soluzione attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2). Lavare la beuta e il filtro con 25 ml di una miscela di 40 ml di *toluene R* e 60 ml di *metanolo R*, aggiungere i lavaggi al filtrato e diluire a 250,0 ml con la stessa miscela di solventi. Preparare una soluzione come bianco.

Soluzione S₃. Introdurre 100 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 250 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e bollire a ricadere per 1 h agitando costantemente. Lasciar raffreddare e decantare la soluzione.

Aspetto della soluzione. La soluzione S₁ è limpida (2.2.1) e incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S₁, aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non sono necessari più di 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. A 100 ml di soluzione S₁ aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1,0 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza della soluzione S₁ misurata a lunghezze d'onda tra 220 nm e 340 nm non è maggiore di 0,2.

Sostanze riducenti. A 20 ml della soluzione S₁ aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Far bollire a ricadere per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco. La differenza tra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 0,5 ml.

Sostanze solubili in esano. Introdurre 10 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio da 250 ml. Aggiungere 100 ml di *esano R* e bollire a ricadere per 4 h con agitazione costante. Raffreddare in acqua ghiacciata e filtrare rapidamente attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2) mantenendo la soluzione a 0 °C

(il tempo di filtrazione deve essere inferiore a 5 min; se necessario la filtrazione può essere accelerata esercitando una pressione sulla soluzione). Evaporare a b.m. 20 ml di filtrato in una capsula di vetro borosilicato tarata. Essiccare il residuo in stufa tra 100 °C e 105 °C per 1 h. La massa del residuo ottenuto non deve differire di più del 10 per cento da quella del residuo ottenuto con il campione tipo e non deve superare il 5 per cento.

Alluminio estraibile. Non più di 1,0 ppm di Al estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di alluminio (Al 200 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione dell'alluminio a 396,15 nm, valutando il fondo spettrale a 396,25 nm.

Verificare l'assenza di alluminio nell'acido cloridrico usato.

Cromo estraibile. Non più di 0,05 ppm di Cr estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di cromo (Cr 100 ppm) R*, diluita con una miscela di 2 volumi di *acido cloridrico R* e 8 volumi di *acqua R*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del cromo a 205,55 nm, valutando il fondo spettrale a 205,50 nm.

Verificare l'assenza di cromo nell'acido cloridrico usato.

Titanio estraibile. Non più di 1,0 ppm di Ti estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di titanio (Ti 100 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del titanio a 336,12 nm, valutando il fondo spettrale a 336,16 nm.

Verificare l'assenza di titanio nell'acido cloridrico usato.

Vanadio estraibile. Non più di 0,1 ppm di V estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di vanadio (V 1 g/l) R*, diluita con una miscela di 2 volumi di *acido cloridrico R* e 8 volumi di *acqua R*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del vanadio a 292,40 nm, valutando il fondo spettrale a 292,35 nm.

Verificare l'assenza di vanadio nell'acido cloridrico usato.

Zinco estraibile. Non più di 1,0 ppm di Zn estraibile, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di zinco (Zn 10 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Misurare l'assorbanza a 213,9 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo allo zinco ed una fiamma aria-acetilene.

Zirconio estraibile. Non più di 0,1 ppm di Zr estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di zirconio (Zr 1 g/l) R*, diluita con una miscela di 2 volumi di *acido cloridrico R* e 8 volumi di *acqua R*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione dello zirconio a 343,82 nm, valutando il fondo spettrale a 343,92 nm.

Verificare l'assenza di zirconio nell'acido cloridrico usato.

Metalli pesanti estraibili (2.4.8). Evaporare a b.m. 50 ml di soluzione S₃ a circa 5 ml e diluire a 20,0 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (2,5 ppm). Preparare lo standard usando 2,5 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,0 per cento, determinate su 5,0 g. Questo limite non si applica a materiale che è stato opacizzato con titanio diossido.

SAGGI SUPPLEMENTARI

Effettuare questi saggi, in tutto o in parte, soltanto se richiesto dalla composizione riportata per il materiale.

Antiossidanti fenolici. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29)

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm)*,
- come fase mobile una delle tre miscele seguenti:
Fase mobile 1 ad una velocità di flusso di 2 ml/min: 30 volumi di *acqua R*, 70 volumi di *acetonitrile R*,
Fase mobile 2 ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min: 10 volumi di *acqua R*, 30 volumi di *tetraidrofurano R*, 60 volumi di *acetonitrile R*,
Fase mobile 3 ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min: 5 volumi di *acqua R*, 45 volumi di *2-propanolo R*, 50 volumi di *metanolo R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm.

Il sistema cromatografico deve assicurare:

- una risoluzione non inferiore a 8,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 07 e all'additivo per plastica 08, con la fase mobile 1,
- una risoluzione non inferiore a 2,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 09 e all'additivo per plastica 10, con la fase mobile 2,

- una risoluzione non inferiore a 2,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 11 e all'additivo per plastica 12, con la fase mobile 3.

Soluzione in esame S₂₁. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Preparare una soluzione in bianco a partire dalla soluzione in bianco corrispondente alla soluzione S₂.

Soluzione in esame S₂₂. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di *diclorometano R*. Preparare una soluzione in bianco a partire dalla soluzione in bianco corrispondente alla soluzione S₂.

Delle seguenti soluzioni di riferimento, preparare solo quelle che sono necessarie per l'analisi degli antiossidanti fenolici riportati nella composizione della sostanza da esaminare.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25,0 mg di *butilidrossitoluene SCR* (additivo per plastica 07) e 60,0 mg di *additivo per plastica 08 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 09 SCR* e 60,0 mg di *additivo per plastica 10 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 11 SCR* e 60,0 mg di *additivo per plastica 12 SCR* in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (d). Disciogliere 25,0 mg di *butilidrossitoluene SCR* (additivo per plastica 07) in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (e). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 08 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (f). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 13 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (g). Disciogliere 60,0 mg di additivo per plastica 09 SCR in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (h). Disciogliere 60,0 mg di additivo per plastica 10 SCR in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetonitrile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (i). Disciogliere 60,0 mg di additivo per plastica 11 SCR in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (j). Disciogliere 60,0 mg di additivo per plastica 12 SCR in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Se la sostanza in esame contiene l'additivo per plastica 07 e/o l'additivo per plastica 08, usare la fase mobile 1 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₁, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco, 20 µl della soluzione di riferimento (a) e anche 20 µl delle soluzioni di riferimento (d) o (e) oppure 20 µl delle soluzioni di riferimento (d) ed (e).

Se la sostanza in esame contiene uno o più dei seguenti antiossidanti:

- additivo per plastica 09,
- additivo per plastica 10,
- additivo per plastica 11,
- additivo per plastica 12,
- additivo per plastica 13,

usare la fase mobile 2 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₁, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco, 20 µl della soluzione di riferimento (b) e 20 µl delle soluzioni di riferimento degli antiossidanti dell'elenco precedente che sono riportati nella composizione.

Se la sostanza in esame contiene l'additivo per plastica 11 e/o l'additivo per plastica 12, usare la fase mobile 3 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₂, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco, 20 µl della soluzione di riferimento (c) e 20 µl delle soluzioni di riferimento (i) o (j) oppure 20 µl delle soluzioni di riferimento (i) e (j).

In tutti i casi, registrare i cromatogrammi per 30 min; i cromatogrammi corrispondenti alle soluzioni in esame S₂₁ e S₂₂ presentano solo picchi dovuti agli antiossidanti contenuti nella composizione e picchi minori presenti anche nei cromatogrammi corrispondenti alle soluzioni in bianco. Le aree dei picchi delle soluzioni

in esame S₂₁ e S₂₂ sono minori delle aree dei picchi corrispondenti nei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento da (d) a (j).

Antiossidanti non-fenolici. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame S₂₃. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 100 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 2 ml di *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (k). Disciogliere 60 mg di additivo per plastica 14 SCR in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (l). Disciogliere 60 mg di additivo per plastica 15 SCR in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (m). Disciogliere 60 mg di additivo per plastica 16 SCR in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (n). Disciogliere 60 mg di additivo per plastica 17 SCR in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (o). Disciogliere 60 mg di additivo per plastica 16 SCR e 60 mg di additivo per plastica 17 SCR in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl della soluzione in esame S₂₃, 20 µl della soluzione di riferimento (o) e 20 µl delle soluzioni di riferimento corrispondenti a tutti gli antiossidanti, fenolici e non-fenolici, dichiarati nella composizione tipo del materiale da esaminare.

Eluire per un percorso di 18 cm usando *esano R*. Lasciar seccare la lastra. Eluire una seconda volta per un percorso di 17 cm usando *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Spruzzare con *iodio soluzione alcoolica R* ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm dopo 10-15 min. Qualunque macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame S₂₃ non è più intensa delle macchie, nelle posizioni corrispondenti, dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento. Il saggio non è valido se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (o) non presenta due macchie nettamente separate.

Ammidi e stearati. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando due lastre del tipo *lastre di gel di silice GF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₂₃ descritta nel saggio per gli antiossidanti non-fenolici.

Soluzione di riferimento (p). Disciogliere 20 mg di *acido stearico SCR* (additivo per plastica 19) in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (q). Disciogliere 40 mg di *additivo per plastica 20 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (r). Disciogliere 40 mg di *additivo per plastica 21 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente.

Deporre su ciascuna delle due lastre 10 µl della soluzione in esame S₂₃. Deporre 10 µl della soluzione di riferimento (p) sulla prima lastra e 10 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (q) e (r) sulla seconda lastra. Eluire la prima lastra per un percorso di 10 cm usando una miscela di 25 volumi di *etanolo R* e 75 volumi di *trimetilpentano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *diclorofenolindofenolo sale sodico R* in *etanolo R* e scaldare in stufa a 120 °C per pochi minuti per intensificare le macchie. Qualsiasi macchia corrispondente all'additivo per plastica 19 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione S₂₃ è identica per posizione (*R_f* circa 0,5) ma non più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (p).

Eluire la seconda lastra per un percorso di 13 cm usando *esano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Eluire una seconda volta per un percorso di 10 cm usando una miscela di 5 volumi di *metanolo R* e 95 volumi di *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra. Spruzzare con una soluzione (40 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *etanolo R*. Scaldare in stufa a 120 °C fino a comparsa delle macchie. Qualsiasi macchia corrispondente all'additivo per plastica 20 o all'additivo per plastica 21 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame S₂₃ è identica per posizione (*R_f* circa 0,2) ma non più intensa della macchia corrispondente nel cromatogramma ottenuto con le soluzioni di riferimento (q) ed (r).

3.1.6. POLIPROPILENE PER CONTENITORI E CHIUSURE PER PREPARAZIONI PARENTERALI ED OFTALMICHE

DEFINIZIONE

Il polipropilene è costituito dall'omopolimero del propilene o da un copolimero del propilene con non più del 25 per cento di etilene o da una miscela (lega) di polipropilene con non più del 25 per cento di polietilene. Può contenere additivi.

PRODUZIONE

Un certo numero di additivi sono addizionati al polimero per migliorare le sue caratteristiche chimiche, fisiche e meccaniche e renderlo così più adatto all'uso previsto. Tutti questi additivi sono scelti dalla lista seguente, che specifica per ciascun prodotto il contenuto massimo consentito.

Possono contenere al massimo tre antiossidanti, uno o più lubrificanti o agenti antibloccanti come pure titanio diossido come agente opacizzante, se il materiale deve proteggere dalla luce.

- butilidrossitoluene (additivo per plastica 07) (non più dello 0,125 per cento),
- pentaeritritile tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil) propionato] (additivo per plastica 09) (non più dello 0,3 per cento),
- 1,3,5-tris[3,5-di-*tert*-butil-4-idrossibenzi]l-*s*-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione (additivo per plastica 13) (non più dello 0,3 per cento),
- ottadecile 3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil) propionato (additivo per plastica 11) (non più dello 0,3 per cento),
- etilenebis[3,3-bis(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil] butanoato] (additivo per plastica 08) (non più dello 0,3 per cento),
- diottadecil disulfuro (additivo per plastica 15) (non più dello 0,3 per cento),
- 4,4',4''-(2,4,6 - trimetilbenzene - 1,3,5 - triiltrimetilen)trio [2,6-bis(1,1-dimetiletil)fenolo] (additivo per plastica 10) (non più dello 0,3 per cento),
- 2,2'-bis(ottadecilossi)-5,5'-spirobi(1,3,2-dioxafoforinano) (additivo per plastica 14) (non più dello 0,3 per cento),
- didodecile-3,3'-tiodipropionato (additivo per plastica 16) (non più dello 0,3 per cento),
- diottadecile-3,3'-tiodipropionato (additivo per plastica 17) (non più dello 0,3 per cento),
- tris[2,4-bis(1,1-dimetiletil)fenil]fosfito (additivo per plastica 12) (non più dello 0,3 per cento),

Il totale degli additivi antiossidanti sopra elencati non supera lo 0,3 per cento.

- idrotalcite (non più dello 0,5 per cento),
- alcanammidi (non più dello 0,5 per cento),
- alchenammidi (non più dello 0,5 per cento),
- sodio silico-alluminato (non più dello 0,5 per cento),
- silice (non più dello 0,5 per cento),
- sodio benzoato (non più dello 0,5 per cento),
- esteri o sali di acidi grassi (non più dello 0,5 per cento),
- fosfato trisodico (non più dello 0,5 per cento),
- paraffina liquida (non più dello 0,5 per cento),

- zinco ossido (non più dello 0,5 per cento),
- talco (non più dello 0,5 per cento),
- magnesio ossido (non più dello 0,2 per cento),
- calcio o zinco stearato o una miscela di entrambi (non più dello 0,5 per cento),
- titanio diossido (non più del 4 per cento) solo per materiali per contenitori per uso oftalmico.

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione tipo sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Polvere, palline, granuli o, dopo trasformazione, lamine traslucide di spessore variabile o contenitori. E' praticamente insolubile in acqua, solubile a caldo negli idrocarburi aromatici, praticamente insolubile in etanolo, in esano e in metanolo. Rammollisce a partire da 120 °C.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

- A. A 0,25 g aggiungere 10 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per circa 15 min. Deporre alcune gocce della soluzione calda su un disco di sodio cloruro ed evaporare il solvente in stufa a 80 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro del materiale in esame presenta un certo numero di massimi, in particolare a 1375 cm^{-1} , 1170 cm^{-1} , 995 cm^{-1} , 970 cm^{-1} . Lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il materiale selezionato come campione tipo. Se il materiale in esame si presenta sotto forma di lamine, l'identificazione può essere effettuata direttamente su un frammento di dimensione appropriata.
- B. Soddisfa ai saggi supplementari corrispondenti agli additivi presenti (vedere Saggi).
- C. In un crogiolo di platino mescolare circa 20 mg con 1 g di *potassio solfato acido R* e scaldare fino a fusione completa. Lasciar raffreddare ed aggiungere 20 ml di *acido solforico diluito R*. Scaldare leggermente. Filtrare la soluzione ottenuta. Aggiungere al filtrato 1 ml di *acido fosforico R* e 1 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*. Se la sostanza è opacizzata con titanio diossido, si sviluppa una colorazione giallo-arancio.

SAGGI

Se necessario tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

Soluzione S₁. Utilizzare la soluzione S₁ entro 4 h dalla preparazione. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 500 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* e bollire a ricadere per 5 h. Lasciar raffreddare e decantare. Conservare una porzione della soluzione per il saggio dell'aspetto della soluzione e filtrare la parte rimanente attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2).

Soluzione S₂. Introdurre 2,0 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 80 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per 1 h e 30 min agitando costantemente. Lasciar raffreddare a 60 °C e aggiungere, continuando l'agitazione, 120 ml di *metanolo R*. Filtrare la soluzione attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2). Lavare la beuta e il filtro con 25 ml di una miscela di 40 ml di *toluene R* e 60 ml di *metanolo R*, aggiungere i lavaggi al filtrato e diluire a 250,0 ml con la stessa miscela di solventi. Preparare una soluzione in bianco.

Soluzione S₃. Introdurre 100 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 250 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e bollire a ricadere per 1 h agitando costantemente. Lasciar raffreddare e decantare la soluzione.

Aspetto della soluzione. La soluzione S₁ non è più opalescente della sospensione di riferimento II (2.2.1) ed è incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S₁, aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non sono necessari più di 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. A 100 ml di soluzione S₁ aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1,0 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza della soluzione S₁ misurata a lunghezze d'onda tra 220 nm e 340 nm non è superiore a 0,2.

Sostanze riducenti. A 20 ml della soluzione S₁ aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Far bollire a ricadere per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco. La differenza tra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 0,5 ml.

Sostanze solubili in esano. Introdurre 10 g in una beuta di vetro borosilicato con collo a smeriglio da 250 ml.

Aggiungere 100 ml di *esano R* e bollire a ricadere per 4 h con agitazione costante. Raffreddare in acqua ghiacciata e filtrare rapidamente attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2) mantenendo la soluzione a 0 °C

(il tempo di filtrazione deve essere inferiore a 5 min; se necessario, la filtrazione può essere accelerata esercitando una pressione sulla soluzione). Evaporare a b.m. 20 ml di filtrato in una capsula di vetro borosilicato tarata. Essiccare il residuo in stufa tra 100 °C e 105 °C per 1 h. La massa del residuo ottenuto non deve differire di più del 10 per cento da quella del residuo ottenuto con il campione tipo e non deve superare il 5 per cento.

Alluminio estraibile. Non più di 1,0 ppm di Al estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di alluminio (Al 200 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione dell'alluminio a 396,15 nm, valutando il fondo spettrale a 396,25 nm.

Verificare l'assenza di alluminio nell'acido cloridrico usato.

Cromo estraibile. Non più di 0,05 ppm di Cr estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di cromo (Cr 100 ppm) R*, diluita con una miscela di 2 volumi di *acido cloridrico R* e 8 volumi di *acqua R*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del cromo a 205,55 nm, valutando il fondo spettrale a 205,50 nm.

Verificare l'assenza di cromo nell'acido cloridrico usato.

Titanio estraibile. Non più di 1,0 ppm di Ti estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di titanio (Ti 100 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del titanio a 336,12 nm, valutando il fondo spettrale a 336,16 nm.

Verificare l'assenza di titanio nell'acido cloridrico usato.

Vanadio estraibile. Non più di 0,1 ppm di V estraibile, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di vanadio (V 1 g/l) R*, diluita con una miscela di 2 volumi di *acido cloridrico R* e 8 volumi di *acqua R*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del vanadio a 292,40 nm, valutando il fondo spettrale a 292,35 nm.

Verificare l'assenza di vanadio nell'acido cloridrico usato.

Zinco estraibile. Non più di 1,0 ppm di Zn estraibile, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di zinco (Zn 10 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Misurare l'assorbanza a 213,9 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo allo zinco ed una fiamma aria-acetilene.

Verificare l'assenza di zinco nell'acido cloridrico usato.

Metalli pesanti estraibili (2.4.8). Evaporare a b.m. 50 ml di soluzione S₃ a circa 5 ml e diluire a 20,0 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (2,5 ppm). Preparare lo standard usando 2,5 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,0 per cento, determinate su 5,0 g. Questo limite non si applica a materiale che è stato opacizzato con titanio diossido.

SAGGI SUPPLEMENTARI

Effettuare questi saggi, in tutto o in parte, soltanto se richiesto dalla composizione riportata per il materiale.

Antiossidanti fenolici. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm)*,
- come fase mobile una delle tre miscele seguenti:
Fase mobile 1 ad una velocità di flusso di 2 ml/min: 30 volumi di *acqua R*, 70 volumi di *acetone R*,
Fase mobile 2 ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min: 10 volumi di *acqua R*, 30 volumi di *tetraidrofurano R*, 60 volumi di *acetone R*,

Fase mobile 3 ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min: 5 volumi di *acqua R*, 45 volumi di *2-propanolo R*, 50 volumi di *metanolo R*,

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm.

Il sistema cromatografico deve assicurare:

- una risoluzione non inferiore a 8,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 07 e all'additivo per plastica 08, con la fase mobile 1,
- una risoluzione non inferiore a 2,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 09 e all'additivo per plastica 10, con la fase mobile 2,
- una risoluzione non inferiore a 2,0 tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 11 e all'additivo per plastica 12, con la fase mobile 3.

Soluzione in esame S₂₁. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Preparare una soluzione in bianco a partire dalla soluzione in bianco corrispondente alla soluzione S₂.

Soluzione in esame S₂₂. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di *diclorometano R*. Preparare una soluzione in bianco a partire dalla soluzione in bianco corrispondente alla soluzione S₂.

Delle seguenti soluzioni di riferimento, preparare solo quelle che sono necessarie per l'analisi degli antiossidanti fenolici riportati nella composizione della sostanza da esaminare.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25,0 mg di *butilidrossitoluene SCR* (additivo per plastica 07) e 60,0 mg di *additivo per plastica 08 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 09 SCR* e 60,0 mg di *additivo per plastica 10 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 11 SCR* e 60,0 mg di *additivo per plastica 12 SCR* in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (d). Disciogliere 25,0 mg di *butilidrossitoluene SCR* (additivo per plastica 07) in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R*

e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (e). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 08 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (f). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 13 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (g). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 09 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (h). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 10 SCR* in 10,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetone R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (i). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 11 SCR* in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (j). Disciogliere 60,0 mg di *additivo per plastica 12 SCR* in 10,0 ml di *diclorometano R*. Diluire 2,0 ml della soluzione a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Se la sostanza in esame contiene l'additivo per plastica 07 e/o l'additivo per plastica 08, usare la fase mobile 1 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₁, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco e 20 µl della soluzione di riferimento (a) e 20 µl della soluzione di riferimento (d) od (e) oppure 20 µl delle soluzioni di riferimento (d) ed (e).

Se la sostanza in esame contiene uno o più dei seguenti antiossidanti:

- additivo per plastica 09,
- additivo per plastica 10,
- additivo per plastica 11,
- additivo per plastica 12,
- additivo per plastica 13,

usare la fase mobile 2 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₁, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco, 20 µl della soluzione di riferimento (b) e 20 µl delle soluzioni di riferimento degli antiossidanti dell'elenco precedente che sono riportati nella composizione.

Se la sostanza in esame contiene l'additivo per plastica 11 e/o l'additivo per plastica 12, usare la fase mobile 3 e iniettare 20 µl della soluzione in esame S₂₂, 20 µl della corrispondente soluzione in bianco, 20 µl della soluzione di riferimento (c) e 20 µl della soluzione di riferimento (i) o (j) oppure 20 µl delle soluzioni di riferimento (i) e (j).

In tutti i casi, registrare i cromatogrammi per 30 min; i cromatogrammi corrispondenti alle soluzioni in esame S₂₁ ed S₂₂ presentano solo picchi dovuti agli antiossidanti contenuti nella composizione e picchi minori presenti anche nei cromatogrammi corrispondenti alle soluzioni in bianco. Le aree dei picchi delle soluzioni in esame S₂₁ ed S₂₂ sono minori delle aree dei picchi corrispondenti nei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento da (d) a (j).

Antiossidanti non-fenolici. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame S₂₃. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 100 ml della soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 2 ml di *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (k). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 14 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (l). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 15 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (m). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 16 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (n). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 17 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (o). Disciogliere 60 mg di *additivo per plastica 16 SCR* e 60 mg di *additivo per plastica 17 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano acidificato R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl della soluzione in esame S₂₃, 20 µl della soluzione di riferimento (o) e 20 µl delle soluzioni di riferimento corrispondenti a tutti gli antiossidanti, fenolici e non-fenolici, dichiarati nella composizione tipo del materiale da esaminare. Eluire per un percorso di 18 cm usando *esano R*. Lasciar seccare la lastra. Eluire una seconda volta per un percorso di 17 cm usando *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra ed esaminare alla luce ultravioletta

a 254 nm. Spruzzare con *iodio soluzione alcoolica R* ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm dopo 10-15 min. Qualsiasi macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame S₂₃ non è più intensa delle macchie, nelle posizioni corrispondenti, dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento. Il saggio non è valido se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (o) non presenta due macchie nettamente separate.

Ammidi e stearati. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando due lastre del tipo *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame. Usare la soluzione S₂₃ descritta nel saggio per gli antiossidanti non-fenolici.

Soluzione di riferimento (p). Disciogliere 20 mg di *acido stearico SCR* (additivo per plastica 19) in *diclorometano R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (q). Disciogliere 40 mg di *additivo per plastica 20 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (r). Disciogliere 40 mg di *additivo per plastica 21 SCR* in *diclorometano R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente.

Deporre su ciascuna delle due lastre 10 µl della soluzione S₂₃. Deporre 10 µl della soluzione di riferimento (p) sulla prima lastra e 10 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (q) ed (r) sulla seconda. Eluire la prima lastra per un percorso di 10 cm usando una miscela di 25 volumi di *etanolo R* e 75 volumi di *trime-tilpentano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *diclorofenolindofenolo sale sodico R* in *etanolo R* e scaldare in stufa a 120 °C per pochi minuti per intensificare le macchie. Qualsiasi macchia corrispondente all'additivo per plastica 19 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione S₂₃ è identica per posizione (*R_f* circa 0,5) ma non più intensa della macchia corrispondente del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (p).

Eluire la seconda lastra per un percorso di 13 cm usando *esano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Eluire una seconda volta per un percorso di 10 cm usando una miscela di 5 volumi di *metanolo R* e 95 volumi di *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra. Spruzzare con una soluzione (40 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *etanolo R*. Scaldare in stufa a 120 °C fino a comparsa delle macchie. Qualunque macchia corrispondente all'additivo per plastica 20 o all'additivo per plastica 21 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame S₂₃ è identica per posizione (*R_f* circa 0,2) ma non più intensa della macchia corrispondente nel cromatogramma ottenuto con le soluzioni di riferimento (q) ed (r).

3.1.7. ETILENE-VINILE ACETATO COPOLIMERO PER CONTENITORI E TUBOLATURE PER PREPARAZIONI DESTINATE ALLA NUTRIZIONE PARENTERALE TOTALE

DEFINIZIONE

L'etilene-vinile acetato copolimero, che soddisfi ai requisiti riportati di seguito, è adatto per la produzione di contenitori e di apparati tubolari per preparazioni destinate alla nutrizione parenterale totale.

L'etilene-vinile acetato copolimero si ottiene per copolimerizzazione di miscele di etilene e di vinile acetato. Questo copolimero contiene una quantità definita di vinile acetato, di non più del 25 per cento per il materiale da utilizzare per contenitori e di non più del 30 per cento per materiale da utilizzare per apparati tubolari.

PRODUZIONE

Un certo numero di additivi sono addizionati al polimero per migliorare le sue caratteristiche chimiche, fisiche e meccaniche e renderlo così più adatto all'uso previsto. Tutti questi additivi sono scelti dalla lista seguente, che specifica per ciascun prodotto il contenuto massimo consentito.

Il polietilene-vinile acetato può contenere non più di tre dei seguenti antiossidanti:

- butilidrossitoluene (additivo per plastica 07) (non più dello 0,125 per cento),
- pentaeritritile tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil) propionato] (additivo per plastica 09) (non più dello 0,2 per cento),
- ottadecile 3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil) propionato (additivo per plastica 11) (non più dello 0,2 per cento),
- 4,4',4''-(2,4,6 - trimetilbenzene - 1,3,5 - triiltrimetil)trio [2,6-bis(1,1-dimetiletil)fenolo] (additivo per plastica 10) (non più dello 0,3 per cento),
- tris [2,4-bis (1,1 - dimetiletil)fenil]fosfito (additivo per plastica 12) (non più dello 0,3 per cento),

Può anche contenere:

- oleammide (additivo per plastica 20) (non più dello 0,5 per cento),
- erucammide (additivo per plastica 21) (non più dello 0,5 per cento),
- calcio o zinco stearato o una miscela di entrambi (non più dello 0,5 per cento),

- calcio carbonato o potassio idrossido (non più dello 0,5 per cento di ciascuno)
- silice colloidale (non più dello 0,2 per cento).

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione tipo sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Palline, granuli o, dopo trasformazione, lamine traslucide o apparati tubolari di spessore variabile o campioni di oggetti finiti; praticamente insolubile in acqua, solubile a caldo negli idrocarburi aromatici, praticamente insolubile in etanolo, in metanolo e in esano che discioglie, tuttavia, polimeri a bassa massa molecolare. Brucia con fiamma blu. La temperatura alla quale la sostanza rammollisce varia con il contenuto di vinile acetato; decresce da circa 100 °C per contenuti di basse percentuali fino a circa 70 °C per contenuti del 30 per cento.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario, tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

A 0,25 g aggiungere 10 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per circa 15 min. Deporre alcune gocce della soluzione ottenuta su un disco di sodio cloruro ed evaporare il solvente in stufa a 80 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro ottenuto mostra massimi di assorbimento corrispondenti al vinile acetato nelle posizioni seguenti: 1740 cm⁻¹, 1375 cm⁻¹, 1240 cm⁻¹, 1020 cm⁻¹, 610 cm⁻¹ e massimi di assorbimento corrispondenti all'etilene nelle seguenti posizioni: da 2920 cm⁻¹ a 2850 cm⁻¹, 1470 cm⁻¹, 1460 cm⁻¹, 1375 cm⁻¹, 730 cm⁻¹, 720 cm⁻¹. Lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il campione tipo fornito dal fabbricante. Se il materiale in esame si presenta sotto forma di lamine, lo spettro può essere ottenuto direttamente su un frammento di dimensione appropriata.

SAGGI

Se necessario, tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 2,0 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 80 ml di *toluene R* e bollire a ricadere per 90 min agitando continuamente. Lasciar raffreddare a 60 °C e aggiungere, continuando l'agitazione, 120 ml di *metanolo R*. Filtrare la soluzione attraverso un filtro di vetro

poroso (16) (2.1.2). Lavare il pallone e il filtro con 25 ml di una miscela di 40 ml di *toluene R* e 60 ml di *metanolo R*, aggiungere i lavaggi al filtrato e diluire a 250 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione S₂. Utilizzare entro 4 h dalla preparazione. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 500 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* e bollire a ricadere per 5 h. Lasciar raffreddare e decantare. Conservare una porzione della soluzione per il saggio dell'aspetto della soluzione S₂ e filtrare la parte rimanente attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2).

Aspetto della soluzione S₂. La soluzione S₂ è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S₂, aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non è necessario più di 1,0 ml di *sodio idrossido 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. A 100 ml di soluzione S₂ aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1,5 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza della soluzione S₂ misurata a lunghezze d'onda tra 220 nm e 340 nm non è superiore a 0,2.

Sostanze riducenti. A 20 ml della soluzione S₂ aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Far bollire a ricadere per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco. La differenza tra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 0,5 ml.

Ammidi e acido stearico. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando due lastre del tipo *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame. Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 100 ml della soluzione S₁. Disciogliere il residuo in 2 ml di *diclorometano acidificato R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 20 mg di *acido stearico SCR* (additivo per plastica 19) in 10 ml di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 40 mg di *additivo per plastica 20 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 1 ml della soluzione a 5 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 40 mg di *additivo per plastica 21 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 1 ml della soluzione a 5 ml con *diclorometano R*. Deporre separatamente 10 µl di ciascuna soluzione su ciascuna delle due lastre.

Eluire la prima lastra per un percorso di 10 cm usando una miscela di 25 volumi di *etanolo R* e 75 volumi di *tri-*

metilpentano R. Lasciar seccare la lastra. Spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *diclorofenolindofenolo sale sodico R* in *etanolo R* e scaldare in stufa a 120 °C per pochi minuti per intensificare le macchie. Qualsiasi macchia corrispondente all'additivo per plastica 19 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame non è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Eluire la seconda lastra per un percorso di 13 cm usando *esano R*. Lasciar seccare la lastra. Eluire una seconda volta per un percorso di 10 cm usando una miscela di 5 volumi di *metanolo R* e 95 volumi di *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra. Spruzzare con una soluzione (40 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *etanolo R*. Scaldare in stufa a 120 °C fino a comparsa delle macchie. Qualsiasi macchia corrispondente all'additivo per plastica 21 o all'additivo per plastica 20 nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame non è più intensa delle macchie corrispondenti dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento (b) e (c) rispettivamente.

Antiossidanti fenolici. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame (a). Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₁. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di una miscela di volumi uguali di *acetoni-trile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione in esame (b). Evaporare a secco, sotto vuoto a 45 °C, 50 ml della soluzione S₁. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *butilidrossitoluene SCR* (additivo per plastica 07), 40 mg di *additivo per plastica 10 SCR*, 40 mg di *additivo per plastica 09 SCR* e 40 mg di *additivo per plastica 11 SCR* in 10 ml di una miscela di volumi uguali di *acetoni-trile R* e *tetraidrofurano R*. Diluire 2 ml della soluzione a 50,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acetoni-trile R* e *tetraidrofurano R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 40 mg di *additivo per plastica 11 SCR* e 40 mg di *additivo per plastica 12 SCR* in 10 ml di *diclorometano R*. Diluire 2 ml della soluzione a 50,0 ml con *diclorometano R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile ad una velocità di flusso di 1,5 ml/min una delle due miscele seguenti:

Fase mobile 1: 10 volumi di *acqua R*, 30 volumi di *tetraidrofurano R*, 60 volumi di *acetoni-trile R*,

Fase mobile 2: 5 volumi di *acqua R*, 45 volumi di *2-propanolo R*, 50 volumi di *metanolo R*,

– come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm.

Usando la fase mobile 1, iniettare 20 µl della soluzione in esame (a) e 20 µl della soluzione di riferimento (a). Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a) presenta solo i picchi principali corrispondenti ai picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) con un tempo di ritenzione superiore a 2 min.

Le aree dei picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a) non sono maggiori di quelle dei picchi corrispondenti del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a), ad eccezione dell'ultimo picco eluito nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Il saggio non è valido se, con la fase mobile 1, il numero di piatti teorici calcolati per il picco corrispondente all'additivo per plastica 07 non è almeno 2500 e la risoluzione tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 09 e all'additivo per plastica 10 non è almeno 2,0.

Se il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a) presenta un picco con lo stesso tempo di ritenzione dell'ultimo antiossidante eluito dalla soluzione di riferimento (a), usare la fase mobile 2 nel modo seguente.

Iniettare 20 µl della soluzione in esame (b) e 20 µl della soluzione di riferimento (b). Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) presenta solo i picchi principali corrispondenti ai picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) con un tempo di ritenzione superiore a 3 min.

Le aree dei picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) non sono maggiori di quelle dei picchi corrispondenti del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

Il saggio non è valido se la risoluzione tra i picchi corrispondenti all'additivo per plastica 11 e all'additivo per plastica 12 non è almeno 2,0.

Sostanze solubili in esano. Introdurre 5 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 50 ml di *esano R*, collegare un refrigerante e bollire a ricadere su b.m. per 4 h con agitazione costante. Raffreddare in acqua ghiacciata; si può formare un gel. Adattare un manicotto di raffreddamento, riempito con acqua ghiacciata, ad un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2) collegato con un sistema che permette di esercitare pressione durante la filtrazione. Lasciare raffreddare il filtro per 15 min. Filtrare la soluzione in esano applicando una pressione, controllata con un manometro, di 27 kPa e senza lavare il residuo; il tempo di filtrazione non deve superare i 5 min.

Evaporare a secco su b.m. 20 ml della soluzione. Essiccare a 100 °C per 1 h. La massa del residuo non è superiore a 40 mg (2 per cento) per il copolimero da utilizzare per i contenitori e non è superiore a 0,1 g (5 per cento) per il copolimero da utilizzare per gli apparati tubolari.

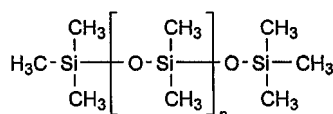
Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,2 per cento, determinate su 5,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre da 0,250 g a 1,000 g della sostanza in esame, a seconda del contenuto di vinile acetato del copolimero in esame, in una beuta con collo a smeriglio da 300 ml contenente un'ancoretta magnetica. Aggiungere 40 ml di *xilene R*. Bollire a ricadere e sotto agitazione per 4 h. Sotto continua agitazione, lasciar raffreddare fino all'inizio della formazione di un precipitato prima di aggiungere lentamente 25,0 ml di *potassio idrossido soluzione alcolica R1*. Bollire di nuovo a ricadere, agitando, per 3 h. Lasciar raffreddare continuando ad agitare, lavare il refrigerante con 50 ml di *acqua R* ed aggiungere 30,0 ml di *acido solforico 0,05 M* nella beuta. Trasferire il contenuto della beuta in un recipiente da 400 ml; lavare la beuta con due porzioni, ciascuna di 50 ml, di una soluzione (200 g/l) di *sodio solfato anidro R* e con tre porzioni, ciascuna da 20 ml, di *acqua R* ed aggiungere tutti i liquidi di lavaggio al recipiente contenente la soluzione iniziale. Titolare l'eccesso di acido solforico con *sodio idrossido 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto finale della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *acido solforico 0,05 M* equivale a 8,609 mg di vinile acetato.

3.1.8. OLIO DI SILICONE USATO COME LUBRIFICANTE



DEFINIZIONE

L'olio di silicone usato come lubrificante è un poli(dimetilsilossano) ottenuto per idrolisi e per policondensazione del diclorodimetilsilano e del clorotrimetilsilano. Esistono differenti gradi di polimerizzazione caratterizzati da un numero, posto dopo il nome, che indica la viscosità nominale.

Gli oli di silicone usati come lubrificanti hanno un grado di polimerizzazione ($n = 400 - 1200$) tale che le loro viscosità cinematiche sono nominalmente comprese tra $1000 \text{ mm}^2\text{s}^{-1}$ e $30000 \text{ mm}^2\text{s}^{-1}$.

Silicone elastomero per chiusure e tubolature

CARATTERI

Liquidi limpidi, incolori, con viscosità diverse, praticamente insolubili in acqua e in metanolo, miscibili con etile acetato, con metiletilchetone e con toluene, molto poco solubili in etanolo.

IDENTIFICAZIONE

- Identificare mediante la viscosità cinematica a 25 °C (vedere Saggi).
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), confrontando con lo spettro ottenuto con l'olio di silicone SCR. La regione dello spettro da 850 cm⁻¹ a 750 cm⁻¹ non si considera poiché può mostrare piccole differenze dipendenti dal grado di polimerizzazione.
- Scaldare 0,5 g in una provetta su piccola fiamma fino a comparsa di fumi bianchi. Capovolgere la provetta su una seconda provetta contenente 1 ml di una soluzione (1 g/l) di *acido cromotropico sale sodico R* in *acido solforico R* in modo che i fumi raggiungano la soluzione. Agitare la seconda provetta per circa 10 s e scaldare a b.m. per 5 min. La soluzione è violetta.
- In un crogiolo di platino, preparare le ceneri solforiche (2.4.14) usando 50 mg del materiale in esame. Il residuo è una polvere bianca che dà la reazione caratteristica dei silicati (2.3.1).

SAGGI

Acidità. A 2,0 g aggiungere 25 ml di una miscela di uguali volumi di *etanolo R* ed *etere R*, precedentemente neutralizzata, 0,2 ml di *blu bromotimolo soluzione R1* ed agitare. Non sono necessari più di 0,15 ml di *sodio idrossido 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore.

Viscosità (2.2.10). Determinare la viscosità dinamica a 25 °C. Calcolare la viscosità cinematica considerando la densità relativa uguale a 0,97. La viscosità cinematica non è inferiore al 95 per cento e non è superiore al 105 per cento della viscosità nominale indicata in etichetta.

Oli minerali. Introdurre 2 ml in una provetta ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. La fluorescenza non è più intensa di quella di una soluzione contenente 0,1 ppm di *chinina solfato R* in *acido solforico 0,005 M* esaminata nelle stesse condizioni.

Composti fenilati. L'indice di rifrazione (2.2.6) non è superiore a 1,410.

Metalli pesanti. Mescolare 1,0 g con *diclorometano R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 1,0 ml di una soluzione (0,02 g/l) di *ditizone R* in *diclorometano R*, preparata di recente, 0,5 ml di *acqua R* e 0,5 ml di una miscela di 1 volume di *ammoniaca diluita R2* e 9 volumi di una soluzione (2 g/l) di *idrossilamina cloridrato R*. Contemporaneamente, preparare una soluzione standard come segue: a 20 ml di *diclorometano R* aggiungere 1,0 ml di una soluzione estemporanea (0,02 g/l) di *ditizone R* in *diclorometano R*, 0,5 ml di una *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* e 0,5 ml di una miscela di 1 volume di *ammoniaca diluita R2* e 9 volumi di una soluzione (2 g/l) di *idrossilamina cloridrato R*. Agitare immediatamente ed energicamente ciascuna soluzione per 1 min. Una colorazione rossa della soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione standard (5 ppm).

Sostanze volatili. Non più del 2,0 per cento, determinate su 2,00 g mediante riscaldamento in stufa a 150 °C per 24 h. Effettuare il saggio usando una capsula del diametro di 60 mm e profonda 10 mm.

ETICHETTE

L'etichetta indica la viscosità nominale con un numero posto dopo il nome del prodotto. L'etichetta indica inoltre che il contenuto deve essere usato come lubrificante.

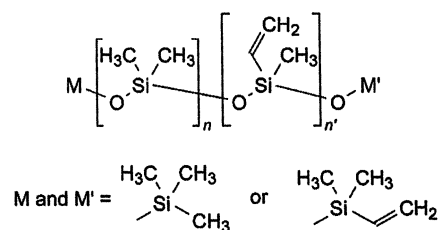
3.1.9. SILICONE ELASTOMERO PER CHIUSURE E TUBOLATURE

DEFINIZIONE

Il silicone elastomero che soddisfa ai requisiti riportati di seguito è idoneo per la produzione di chiusure e di tubolature.

Il silicone elastomero si ottiene per reticolazione di un polisilossano lineare costituito principalmente di unità dimetilsilossi con piccole quantità di gruppi metilvinilsilossi; le estremità della catena sono bloccate da gruppi trimetilsilossi o dimetilvinilsilossi.

La formula generale del polisilossano è:



La reticolazione è ottenuta a caldo per mezzo di:

- 2,4 - diclorobenzole perossido per prodotti estrusi,

- 2,4 - diclorobenzoile perossido o dicumile perossido oppure *OO*-(1,1-dimetiletil) *O*-isopropil monoperossicarbonato o 2,5-bis[(1,1-dimetiletil)diossi]-2,5-dimetilesano per prodotti fusi.

oppure:

- per idrosililazione per mezzo di polisilossano con gruppi-SiH, utilizzando platino come catalizzatore.

In tutti i casi, si utilizzano additivi appropriati come silice e a volte piccole quantità di additivi organosilicici (α , ω -diidrossipolidimetilsilossano).

CARATTERI

Materiale trasparente o traslucido, praticamente insolubile in solventi organici, alcuni dei quali, per esempio cicloesano, esano e diclorometano, causano un rigonfiamento reversibile del materiale.

IDENTIFICAZIONE

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso registrando lo spettro con il metodo della riflessione multipla per solidi (2.2.24), confrontando con lo spettro ottenuto con *silicone elastomero SCR*.
- Scaldare 1,0 g in una provetta su piccola fiamma fino a comparsa di fumi bianchi. Capovolgere la provetta su una seconda provetta contenente 1 ml di una soluzione (1 g/l) di *acido cromotropico sale sodico R* in *acido solforico R* in modo che i fumi raggiungano la soluzione. Agitare la seconda provetta per circa 10 s e scaldare a b.m. per 5 min. La soluzione è violetta.
- 50 mg del residuo della combustione danno la reazione caratteristica dei silicati (2.3.1).

SAGGI

Se necessario tagliare il materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato di non più di 1 cm.

Soluzione S. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 500 ml di *acqua R* e bollire a ricadere per 5 h. Lasciar raffreddare e decantare.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S aggiungere 0,15 ml di *blu bromotimolo soluzione R1*. Non sono necessari più di 2,5 ml di *sodio idrossido 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. Ad altri 100 ml di soluzione S aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*.

Per raggiungere l'inizio del viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1,0 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Densità relativa (2.2.5). Da 1,05 a 1,25, determinata utilizzando un picnometro, con *etanolo R* come liquido di immersione.

Sostanze riducenti. A 20 ml della soluzione S aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R*, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco usando 20 ml di *acqua R* al posto della soluzione S. La differenza tra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 1,0 ml.

Sostanze solubili in esano. Evaporare 25 ml della soluzione ottenuta nel saggio per i composti fenilati in una capsula di vetro su b.m. e seccare in stufa da 100 °C a 105 °C per 1 h. Il residuo pesa non più di 15 mg (3 per cento).

Sostanze volatili. Pesare 10,0 g della sostanza precedentemente conservata per 48 h in essiccatore su *calcio cloruro anidro R*. Scaldare in stufa a 200 °C per 4 h, lasciar raffreddare in essiccatore e pesare nuovamente. Per il silicone elastomero preparato usando i perossidi, il contenuto di sostanza volatile non è superiore allo 0,5 per cento. Per il silicone elastomero preparato usando il platino, il contenuto di sostanza volatile non è superiore al 2,0 per cento.

Oli minerali. Introdurre 2 g in una beuta da 100 ml contenente 30 ml di una miscela di 5 volumi di *ammoniacca R* e 95 volumi di *piridina R*. Lasciare a riposo per 2 h, agitando spesso. Decantare la soluzione in piridina ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. La fluorescenza non è superiore a quella di una soluzione contenete 1 ppm di *chinina solfato R* in *acido solforico 0,005 M* esaminata nelle stesse condizioni.

Composti fenilati. Introdurre 2,0 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio ed aggiungere 100 ml di *esano R*. Bollire a ricadere per 4 h. Raffreddare, poi filtrare rapidamente attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2). Raccogliere il filtrato e chiudere il recipiente per evitare l'evaporazione. L'assorbanza (2.2.25), misurata alle lunghezze d'onda tra 250 nm e 340 nm, non è superiore a 0,4.

Il silicone elastomero preparato usando i perossidi soddisfa al saggio supplementare seguente:

Perossidi residui. Introdurre 5 g in un pallone di vetro borosilicato, aggiungere 150 ml di *diclorometano R* e chiudere il pallone. Agitare con un agitatore meccanico per 16 h. Filtrare rapidamente, raccogliendo il filtrato in un pallone con collo a smeriglio. Sostituire l'aria nel

contenitore con *azoto esente da ossigeno R*, introdurre 1 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio ioduro R* in *acido acetico anidro R*, chiudere il pallone, agitare accuratamente e lasciare a riposo per 30 min al riparo dalla luce. Aggiungere 50 ml di *acqua R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando 0,25 ml di *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco. La differenza tra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 2,0 ml (0,08 per cento calcolato come diclorobenzoile perossido).

Il silicone elastomero preparato usando il platino soddisfa al saggio supplementare seguente:

Platino. Calcinare, in un crogiolo di quarzo, 1,0 g di materiale in esame, aumentando la temperatura gradualmente fino ad ottenere un residuo bianco. Trasferire il residuo in un crogiolo di grafite. Aggiungere, nel crogiolo di quarzo, 10 ml di una miscela, preparata di recente, di 1 volume di *acido nitrico R* e 3 volumi di *acido cloridrico R*, scaldare a b.m. per 1-2 min e trasferire nel crogiolo di grafite. Aggiungere 5 mg di *potassio cloruro R* e 5 ml di *acido fluoridrico R* ed evaporare a secco a b.m. Aggiungere 5 ml di *acido fluoridrico R* ed evaporare nuovamente a secco; ripetere questa operazione due volte. Disciogliere il residuo in 5 ml di *acido cloridrico 1 M*, scaldando a b.m. Lasciare raffreddare ed aggiungere la soluzione ad 1 ml di una soluzione (250 g/l) di *stagno(oso) cloruro R* in *acido cloridrico 1 M*, lavare il crogiolo di grafite con pochi millilitri di *acido cloridrico 1 M* e diluire a 10,0 ml con lo stesso acido. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento nel modo seguente: ad 1 ml di una soluzione (250 g/l) di *stagno(oso) cloruro R* in *acido cloridrico 1 M* aggiungere 1,0 ml di una *soluzione standard di platino (Pt 30 ppm) R* e diluire a 10,0 ml con *acido cloridrico 1 M*. Il colore della soluzione in esame non è più intenso di quello della soluzione standard (30 ppm).

ETICHETTE

L'etichetta indica se il materiale è preparato usando i perossidi oppure il platino.

3.1.10. MATERIALI A BASE DI POLIVINILE CLORURO NON-PLASTIFICATO PER CONTENITORI PER SOLUZIONI ACQUOSE NON INIETTABILI

DEFINIZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro non-plasticato che soddisfano ai requisiti seguenti sono idonei per la fabbricazione di contenitori per soluzioni acquose non-iniettabili. Possono anche essere usati per formula-

zioni solide per somministrazione orale e in alcuni casi, sottoposti a speciali studi di compatibilità del contenitore con il suo contenuto, questi materiali sono idonei per la fabbricazione di contenitori per supposte. Sono costituiti da uno o più poli(vinile cloruro/vinile acetato) o da una miscela di polivinile cloruro e polivinile acetato o da polivinile cloruro.

Contengono non più di 1 ppm di vinile cloruro.

Il contenuto di cloro espresso come polivinile cloruro non è inferiore all'80 per cento.

Possono contenere non più del 15 per cento di copolimeri a base di acido acrilico e/o metacrilico e/o loro esteri, e/o stirene e/o butadiene.

PRODUZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro non-plasticato sono ottenuti mediante metodi di polimerizzazione che garantiscono un contenuto residuo di vinile cloruro minore di 1 ppm. Il metodo di produzione utilizzato è validato per dimostrare che il prodotto soddisfa al saggio seguente:

Vinile cloruro. Non più di 1 ppm, determinato mediante gas cromatografia a spazio di testa (2.2.28), utilizzando *etere R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Utilizzando una microsiringa, iniettare 10 µl di *etere R* in 20,0 ml di *dimetilacetammide R*, immergendo la punta dell'ago nel solvente. Immediatamente prima dell'uso, diluire la soluzione a 1000 volte il suo volume con *dimetilacetammide R*.

Soluzione in esame. Introdurre 1,000 g del materiale in esame in un flaconcino da 50 ml ed aggiungere 10,0 ml della soluzione dello standard interno. Chiudere il flaconcino e fissare il tappo. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre il flaconcino a b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Soluzione madre di vinile cloruro. Preparare sotto cappa ventilata. Introdurre 50,0 ml di *dimetilacetammide R* in un flaconcino da 50 ml, chiudere, fissare il tappo e pesare con la precisione di 0,1 mg. Riempire una siringa di polietilene o di polipropilene da 50 ml con *vinile cloruro R* gassoso, lasciare che il gas rimanga a contatto con la siringa per circa 3 min, vuotare la siringa e riempirla di nuovo con 50 ml di *vinile cloruro R* gassoso. Applicare alla siringa un ago ipodermico e ridurre il volume di gas nella siringa da 50 ml a 25 ml. Iniettare lentamente questi 25 ml di vinile cloruro nel flaconcino, agitando leggermente ed evitando il contatto fra il liquido e l'ago. Pesare di nuovo il flaconcino; l'aumento di massa è di circa 60 mg (1 µl della soluzione

così ottenuta contiene circa 1,2 µg di vinile cloruro). Lasciare a riposo per 2 h. Conservare la soluzione madre in frigorifero.

Vinile cloruro soluzione standard. Ad 1 volume della soluzione madre di vinile cloruro aggiungere 3 volumi di *dimetilacetammide R*.

Soluzioni di riferimento. Introdurre 10,0 ml della soluzione dello standard interno in ciascuno di sei flaconcini da 50 ml. Chiudere i flaconcini e fissare il tappo. Iniettare in cinque flaconcini, rispettivamente, 1 µl, 2 µl, 3 µl, 5 µl e 10 µl della soluzione standard di vinile cloruro. Le sei soluzioni così ottenute contengono, rispettivamente, 0 µg, circa 0,3 µg, 0,6 µg, 0,9 µg, 1,5 µg e 3 µg di vinile cloruro. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre i flaconcini a b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 3 m e con un diametro interno di 3 mm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con il 5 per cento m/m di *dimetilstearylammide R* e con il 5 per cento m/m di *macrogol 400 R*,
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di 30 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 45 °C, quella della camera di iniezione a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Iniettare 1 ml dello spazio di testa di ciascun flaconcino. Calcolare il contenuto di vinile cloruro.

Per ottenere le caratteristiche meccaniche e di stabilità richieste, i materiali a base di polivinile cloruro non-plastificato possono contenere:

- non più dell'8 per cento di olio di soia epossidato il cui titolo in ossigeno ossiranico è compreso tra il 6 per cento e l'8 per cento e il cui indice di iodio non è superiore a 6,
- non più dell'1,5 per cento di sali di calcio o sali di zinco di acidi grassi alifatici con più di sette atomi di carbonio o non più dell'1,5 per cento di una loro miscela,
- non più dell'1,5 per cento di paraffina liquida,
- non più dell'1,5 per cento di cere,
- non più del 2 per cento di oli idrogenati o esteri di acidi grassi alifatici,
- non più dell'1,5 per cento di esteri di macrogol,
- non più dell'1,5 per cento di sorbitolo,

- non più dell'1 per cento di 2,4-dinonilfenile fosfito, o di(4-nonilfenile)fosfito oppure tris(nonilfenile) fosfito.

Possono contenere uno dei seguenti gruppi di stabilizzanti:

- non più dello 0,25 per cento di stagno come di(isoottil) 2,2'-[[diottilstannilene]bis(tio)]diacetato contenente circa il 27 per cento di tri(isoottil) 2,2',2''-[[monoottilstannilidene]tris(tio)]triacetato,
- non più dello 0,25 per cento di stagno come una miscela contenente non più del 76 per cento di di (isoottil) 2,2'-[[dimetilstannilene]bis(tio)]diacetato e non più dell'85 per cento di tri(isoottil) 2,2',2''-[[monometilstannilidene]tris(tio)]triacetato; (isoottil è per esempio 2-etilesil),
- non più dell'1 per cento di 1-fenileicosano-1,3-dione(benzoilstearylmetano) oppure 2-(4-dodecilfenil)indolo oppure didodecil 1,4-diidropiridina-2,6-dimetil-3,5-dicarbossilato o 1 per cento di una miscela di due di questi.

Possono contenere un colorante o un pigmento.

Possono essere opacizzati con titanio diossido.

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione tipo sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Polvere, palline, granuli, lamine di spessore variabile o campioni prelevati da oggetti finiti, insolubile in acqua, solubile in tetraidrofurano, scarsamente solubile in diclorometano, insolubile in etanolo. Bruciano con una fiamma arancio-gialla orlata di verde, producendo un fumo nero, denso.

IDENTIFICAZIONE

Disciogliere il residuo (A) (vedere Saggi: soluzione S₂) in 5 ml di *tetraidrofurano R*. Deporre alcune gocce della soluzione su un disco di sodio cloruro ed evaporare a secco in stufa a 100-105 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro del materiale in esame mostra massimi di assorbimento a 2975 cm⁻¹, 2910 cm⁻¹, 2865 cm⁻¹, 1430 cm⁻¹, 1330 cm⁻¹, 1255 cm⁻¹, 690 cm⁻¹, 615 cm⁻¹. Inoltre lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il materiale selezionato per il campione tipo.

SAGGI

Se necessario, tagliare il materiale in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato. Aggiungere 500 ml di *acqua R* e coprire il collo del pallone con un foglio di alluminio o con un beaker di vetro borosilicato. Scaldare in autoclave a 121 ± 2 °C per 20 min. Lasciare raffreddare e lasciar sedimentare i solidi.

Soluzione S₂. Disciogliere 5,0 g in 80 ml di *tetraidrofurano R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Se necessario filtrare (la soluzione può rimanere opalescente). Diluire 20 ml della soluzione e aggiungere goccia a goccia 70 ml di *etanolo R* agitando con cautela. Raffreddare in ghiaccio per 1 h. Filtrare o centrifugare. Lavare il residuo A con *etanolo R* e aggiungere i liquidi di lavaggio al filtrato o al liquido centrifugato. Diluire a 100 ml con *etanolo R*.

Soluzione S₃. Introdurre 5 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 100 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e bollire a ricadere per 1 h. Lasciare raffreddare e lasciar sedimentare i solidi.

Aspetto della soluzione S₁. La soluzione S₁ non è più opalescente della sospensione di riferimento II (2.2.1) ed è incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Assorbanza della soluzione S₁ (2.2.25). Evaporare a secco 100 ml della soluzione S₁. Disciogliere il residuo in 5 ml di *esano R*. Filtrare se necessario attraverso un filtro precedentemente lavato con *esano R*. L'assorbanza del filtrato, determinata a lunghezza d'onda tra 250 nm e 310 nm, non è superiore a 0,25.

Assorbanza della soluzione S₂ (2.2.25). Alle lunghezze d'onda tra 250 nm e 330 nm, l'assorbanza della soluzione S₂ non è superiore a 0,2 per materiali stabilizzati con stagno e a 0,4 per gli altri materiali.

Bario estraibile. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Soluzione S₃.

Soluzione di riferimento. Soluzione contenente 0,1 ppm di bario preparata per diluizione di una *soluzione standard di bario (Ba 50 ppm) R* con *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare la determinazione usando l'emissione del bario a 455,40 nm, valutando il fondo spettrale a 455,30 nm.

Verificare l'assenza di bario nell'acido cloridrico usato. Esaminata a 455,40 nm, l'emissione della soluzione in esame non è superiore a quella della soluzione di riferimento (2,0 ppm).

Cadmio estraibile. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Soluzione S₃

Soluzione di riferimento. Soluzione contenente 0,03 ppm di cadmio preparata per diluizione di una *soluzione standard di cadmio (Cd 0,1 per cento) R* con *acido cloridrico 0,1 M*.

Verificare l'assenza di cadmio nell'acido cloridrico usato.

Esaminata a 228,8 nm, l'assorbanza della soluzione in esame non è superiore a quella della soluzione di riferimento (0,6 ppm).

Materiali stabilizzati con stagno. A 0,10 ml di soluzione S₂ aggiungere in una provetta 0,05 ml di *acido cloridrico 1 M*, 0,5 ml di *potassio ioduro soluzione R* e 5 ml di *etanolo R*. Miscelare completamente e aspettare 5 min. Aggiungere 9 ml di *acqua R* e 0,1 ml di una soluzione (5 g/l) di *sodio solfito R* e miscelare completamente. Aggiungere 1,5 ml di *ditizone soluzione R* diluita al momento cento volte con *diclorometano R*, agitare per 15 s e lasciare a riposo per 2 min. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento nelle stesse condizioni utilizzando 0,1 ml di una soluzione standard di stagno.

Qualsiasi colorazione violetta dello strato inferiore ottenuta con la soluzione S₂ non è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento (0,25 per cento di Sn). La colorazione grigio-blu della soluzione di ditizone vira al rosa in presenza di stagno.

Soluzione madre di stagno. Diluire 81 mg di *additivo per plastica 23 SCR* a 100 ml con *tetraidrofurano R* in un pallone tarato da 100 ml.

Soluzione standard di stagno. Diluire 20 ml della soluzione madre di stagno a 100 ml con *etanolo R* in un pallone tarato da 100 ml.

Materiali non stabilizzati con stagno. A 5 ml di soluzione S₂ aggiungere in una provetta 0,05 ml di *acido cloridrico 1 M* e 0,5 ml di *potassio ioduro soluzione R*. Miscelare completamente e attendere per 5 min. Aggiungere 9 ml di *acqua R* e 0,1 ml di una soluzione (5 g/l) di *sodio solfito R* e miscelare completamente. Se la soluzione ottenuta non è incolore, aggiungere la soluzione di sodio solfito in frazioni di 0,05 ml. Aggiungere 1,5 ml di *ditizone soluzione R* diluita al momento cento volte con *diclorometano R*, agitare per 15 s e lasciare a riposo per 2 min. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento nelle stesse condizioni utilizzando 0,05 ml di una soluzione standard di stagno.

Qualsiasi colorazione violetta dello strato inferiore ottenuta con la soluzione S₂ non è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento (25 ppm di Sn).

Metalli pesanti estraibili (2.4.8). 12 ml della soluzione S₃ soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (20 ppm). Preparare la soluzione standard usando 10 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Zinco estraibile. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Soluzione S₃ diluita dieci volte con acqua R.

Soluzione di riferimento. Soluzione contenente 0,50 ppm di zinco preparata per diluizione di una *soluzione standard di zinco (Zn 5 mg/ml) R* con *acido cloridrico 0,01 M*.

Verificare l'assenza di zinco nell'acido cloridrico usato.

Esaminata a 214,0 nm, l'assorbanza della soluzione in esame non è superiore a quella della soluzione di riferimento ($1,00 \times 10^2$ ppm).

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,0 per cento, determinate su 1,0 g. Quando il materiale è opacizzato con titanio diossido, la quantità di ceneri solforiche non eccede il 4,0 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Eseguire il metodo della combustione in ossigeno (2.5.10) usando 50,0 mg del materiale da esaminare. Assorbire i prodotti di combustione in 20 ml di *sodio idrossido 1 M*. Alla soluzione ottenuta aggiungere 2,5 ml di *acido nitrico R*, 10,0 ml di *argento nitrato 0,1 M*, 5 ml di *ferro(-ico) ammonio solfato soluzione R2* ed 1 ml di *dibutile ftalato R*. Titolare con *ammonio tiocianato 0,05 M* fino a colorazione giallo-rossastra. Effettuare una determinazione in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 6,25 mg di polivinile cloruro.

3.1.11. MATERIALI A BASE DI POLIVINILE CLORURO NON-PLASTIFICATO PER CONTENITORI PER FORME FARMACEUTICHE ESSICcate PER SOMMINISTRAZIONE ORALE

DEFINIZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro non-plastificato per contenitori per forme farmaceutiche essiccate per somministrazione orale sono idonei per la produzione di lamine o contenitori.

Sono costituiti da uno o più poli(vinile cloruro/vinile acetato) o da una miscela di polivinile cloruro e polivinile acetato o da polivinile cloruro.

Contengono non più di 1 ppm di vinile cloruro.

Il contenuto di cloro espresso come polivinile cloruro non è inferiore all'80 per cento.

Possono contenere non più del 15 per cento di copolimeri a base di acido acrilico e/o metacrilico e/o loro esteri, e/o stirene e/o butadiene.

PRODUZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro non-plastificato sono ottenuti mediante metodi di polimerizzazione che garantiscono un contenuto residuo di vinile cloruro minore di 1 ppm. Il metodo di produzione utilizzato è validato per dimostrare che il prodotto soddisfa al saggio seguente.

Vinile cloruro. Non più di 1 ppm, determinato mediante gas cromatografia a spazio di testa (2.2.28), utilizzando *etere R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Utilizzando una micro-siringa, iniettare 10 µl di *etere R* in 20,0 ml di *dimetilacetammide R*, immergendo la punta dell'ago nel solvente. Immediatamente prima dell'uso, diluire la soluzione a 1000 volte il suo volume con *dimetilacetammide R*.

Soluzione in esame. Introdurre 1,000 g del materiale in esame in un flaconcino da 50 ml ed aggiungere 10,0 ml della soluzione dello standard interno. Chiudere il flaconcino e fissare il tappo. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre il flaconcino a b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Soluzione madre di vinile cloruro. Preparare sotto cappa ventilata. Introdurre 50,0 ml di *dimetilacetammide R* in un flaconcino da 50 ml, chiudere, fissare il tappo e pesare con la precisione di 0,1 mg. Riempire una siringa di polietilene o di polipropilene da 50 ml con *vinile cloruro R* gassoso, lasciare che il gas rimanga a contatto con la siringa per circa 3 min, vuotare la siringa e riempirla di nuovo con 50 ml di *vinile cloruro R* gassoso. Applicare alla siringa un ago ipodermico e ridurre il volume di gas nella siringa da 50 ml a 25 ml. Iniettare lentamente i rimanenti 25 ml di vinile cloruro nel flaconcino, agitando leggermente ed evitando il contatto fra il liquido e l'ago. Pesare di nuovo il flaconcino; l'aumento di massa è di circa 60 mg (1 µl della soluzione così ottenuta contiene circa 1,2 µg di vinile cloruro). Lasciare riposare per 2 h. Conservare la soluzione madre in frigorifero.

Vinile cloruro soluzione standard. Ad 1 volume della soluzione madre di vinile cloruro aggiungere 3 volumi di *dimetilacetammide R*.

Soluzioni di riferimento. Introdurre 10,0 ml della soluzione dello standard interno in ciascuno di sei flaconcini da 50 ml. Chiudere i flaconcini e fissare il tappo. Iniettare in cinque flaconcini, rispettivamente, 1 µl,

Materiali a base di polivinile cloruro per forme farmaceutiche essiccate per somministrazione orale

2 µl, 3 µl, 5 µl e 10 µl della soluzione standard di vinile cloruro. Le sei soluzioni così ottenute contengono, rispettivamente, 0 µg, circa 0,3 µg, 0,6 µg, 0,9 µg, 1,5 µg e 3 µg di vinile cloruro. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre i flaconcini su b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 3 m e con un diametro interno di 3 mm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con il 5 per cento m/m di *dimetilstearylammide R* e con il 5 per cento m/m di *macrogol 400 R*,
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di 30 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 45 °C, quella della camera di iniezione a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Iniettare 1 ml dello spazio di testa di ciascun flaconcino. Calcolare il contenuto di vinile cloruro.

Additivi

Per ottenere le caratteristiche meccaniche e di stabilità richieste, i materiali a base di polivinile cloruro non-plastificato possono contenere:

- non più del 2 per cento di olio di soia epossidato il cui titolo in ossigeno ossiranicico è compreso tra il 6 per cento e l'8 per cento e il cui indice di iodio non è superiore a 6 per materiali stabilizzati con stagno,
- non più del 3 per cento di olio di soia epossidato il cui titolo in ossigeno ossiranicico è compreso tra il 6 per cento e l'8 per cento e il cui indice di iodio non è superiore a 6 per materiali non stabilizzati con stagno,
- non più dell'1,5 per cento di sali di calcio, di magnesio o di zinco di acidi grassi alifatici con più di sette atomi di carbonio o non più dell'1,5 per cento di una loro miscela,
- non più del 4 per cento di cere,
- non più dell'1,5 per cento di paraffina liquida,
- non più del 2 per cento di oli idrogenati o esteri di acidi grassi alifatici,
- non più del 4 per cento per la somma percentuale dei tre lubrificanti sopraindicati,
- non più dell'1,5 per cento di esteri di macrogol,
- non più dell'1,5 per cento di sorbitolo,
- non più dell'1 per cento di 2,4-dinonilfenile fosfito, o di(4-nonilfenile)fosfito oppure tris(nonilfenile) fosfito.

- non più dell'1 per cento di calcio carbonato,
- non più dell'1 per cento di silice.

Possono contenere uno dei seguenti gruppi di stabilizzanti:

- non più dello 0,25 per cento di stagno come di(isoottil)2,2'-[(diottilstannilene)bis(tio)]diacetato contenente circa il 27 per cento di tri(isoottil)2,2',2''-[(monoottilstannilidene)tris(tio)]triacetato,
- non più dello 0,25 per cento di stagno come una miscela contenente non più del 76 per cento di di(isoottil)2,2'-[(dimetilstannilene)bis(tio)]diacetato e non più dell'85 per cento di tri(isoottil)2,2',2''-[(monometilstannilidene)tris(tio)]triacetato; (isoottile è per esempio 2-etilesil),
- non più dell'1 per cento di 1-fenileicosano-1,3-dione(benzoilstearoilmetano).

Possono contenere un colorante o un pigmento.

Possono essere opacizzati con titanio diossido.

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione tipo sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Polvere, palline, granuli, lamine di spessore variabile o campioni prelevati da oggetti finiti; insolubile in acqua, solubile in tetraidrofurano, scarsamente solubile in diclorometano, insolubile in etanolo. Bruciano con una fiamma arancio-gialla orlata di verde, producendo un fumo nero, denso.

IDENTIFICAZIONE

Disciogliere il residuo A (vedere Saggi: soluzione S₂) in 5 ml di *tetraidrofurano R*. Deporre alcune gocce della soluzione su un disco di sodio cloruro ed evaporare a secco in stufa a 100-105 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro del materiale in esame mostra massimi di assorbimento a 2975 cm⁻¹, 2910 cm⁻¹, 2865 cm⁻¹, 1430 cm⁻¹, 1330 cm⁻¹, 1255 cm⁻¹, 690 cm⁻¹, 615 cm⁻¹. Inoltre lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il materiale selezionato per il campione tipo.

SAGGI

Se necessario, tagliare il materiale in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato. Aggiungere 500 ml di *acqua R* e coprire il collo del pallone con un foglio di alluminio o con un

beaker di vetro borosilicato. Scaldare in autoclave a 121 ± 2 °C per 20 min. Lasciare raffreddare e lasciar decantare.

Soluzione S₂. Disciogliere 5,0 g in 80 ml di *tetraidrofurano R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Se necessario filtrare (la soluzione può rimanere opalescente). Diluire 20 ml della soluzione e aggiungere goccia a goccia 70 ml di *etanolo R* agitando con cautela. Raffreddare in ghiaccio per 1 h. Filtrare o centrifugare. Lavare il residuo A con *etanolo R* e aggiungere i liquidi di lavaggio al filtrato o al liquido centrifugato. Diluire a 100 ml con *etanolo R*.

Soluzione S₃. Introdurre 5 g in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 100 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e bollire a ricadere per 1 h. Lasciare raffreddare e decantare.

Aspetto della soluzione S₁. La soluzione S₁ non è più opalescente della sospensione di riferimento II (2.2.1) ed è incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Assorbanza della soluzione S₁ (2.2.25). Evaporare a secco 100 ml della soluzione S₁. Disciogliere il residuo in 5 ml di *esano R*. Filtrare se necessario attraverso un filtro precedentemente lavato con *esano R*. L'assorbanza del filtrato, determinata a lunghezza d'onda tra 250 nm e 310 nm, non è superiore a 0,3.

Assorbanza della soluzione S₂ (2.2.25). Per i materiali che non contengono 1-fenileicosan-1,3-dione, alle lunghezze d'onda tra 250 e 330 nm, l'assorbanza della soluzione S₂ non è superiore a 0,5. Per i materiali che contengono 1-fenileicosan-1,3-dione, alle lunghezze d'onda comprese tra 250 e 330 nm, l'assorbanza della soluzione S₂, diluita 10 volte con *alcol R*, non è maggiore di 0,4.

Materiali stabilizzati con stagno. A 0,10 ml di soluzione S₂ aggiungere in una provetta 0,05 ml di *acido cloridrico 1 M*, 0,5 ml di *potassio ioduro soluzione R* e 5 ml di *etanolo R*. Miscelare completamente e aspettare 5 min. Aggiungere 9 ml di *acqua R* e 0,1 ml di una soluzione di 5 g/l di *sodio solfito R* e miscelare completamente. Aggiungere 1,5 ml di *ditizone soluzione R* diluita cento volte al momento con *diclorometano R*, agitare per 15 s e lasciare a riposo per 2 min. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento nelle stesse condizioni utilizzando 0,1 ml di una soluzione standard di stagno.

Qualsiasi colorazione violetta dello strato inferiore ottenuta con la soluzione S₂ non è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento (0,25 per cento di Sn). La colorazione grigio-blu della soluzione di ditizone vira al rosa in presenza di stagno.

Soluzione madre di stagno. Diluire 81 mg di *additivo per plastica 23 SCR* a 100 ml con *tetraidrofurano R* in un pallone tarato da 100 ml.

Soluzione standard di stagno. Diluire 20 ml della soluzione madre di stagno a 100 ml con *etanolo R* in un pallone tarato da 100 ml.

Materiali non stabilizzati con stagno. A 5 ml di soluzione S₂ aggiungere in una provetta 0,05 ml di *acido cloridrico 1 M* e 0,5 ml di *potassio ioduro soluzione R*. Miscelare completamente e attendere per 5 min. Aggiungere 9 ml di *acqua R* e 0,1 ml di una soluzione (5 g/l) di *sodio solfito R* e miscelare completamente. Se la soluzione ottenuta non è incolore, aggiungere la soluzione di sodio solfito in frazioni di 0,05 ml. Aggiungere 1,5 ml di *ditizone soluzione R* diluita cento volte al momento con *diclorometano R*, agitare per 15 s e lasciare a riposo per 2 min. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento nelle stesse condizioni utilizzando 0,05 ml di una soluzione standard di stagno.

Qualsiasi colorazione violetta dello strato inferiore ottenuta con la soluzione S₂ non è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento (Sn 25 ppm).

Metalli pesanti estraibili (2.4.8). 12 ml della soluzione S₃ soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (20 ppm). Preparare la soluzione standard usando 10 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Zinco estraibile. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Soluzione S₃ diluita dieci volte con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Soluzione contenente 0,50 ppm di zinco preparata per diluizione di una *soluzione standard di zinco (Zn 5 mg/ml) R* con *acido cloridrico 0,01 M*.

Verificare l'assenza di zinco nell'acido cloridrico usato. Esaminata a 214,0 nm, l'assorbanza della soluzione in esame non è superiore a quella della soluzione di riferimento ($1,00 \times 10^2$ ppm).

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,0 per cento, determinate su 1,0 g. Quando il materiale è opacizzato con titanio diossido, la quantità di ceneri solforiche non supera il 4,0 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

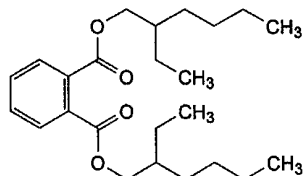
Eeguire il metodo della combustione in ossigeno (2.5.10) usando 50,0 mg del materiale da esaminare. Assorbire i prodotti di combustione in 20 ml di *sodio idrossido 1 M*. Alla soluzione ottenuta aggiungere 2,5 ml di *acido nitrico R*, 10,0 ml di *argento nitrato 0,1 M*, 5 ml di *ferro(-ico) ammonio solfato soluzione R2* ed 1 ml di *dibutile ftalato R*. Titolare con *ammonio tiocianato 0,05 M* fino a colorazione giallo-rossastra. Effettuare una determinazione in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 6,25 mg di polivinile cloruro.

3.1.13. ADDITIVI PER PLASTICA

NOTA: la prima nomenclatura data segue le regole IUPAC. Il sinonimo in grassetto corrisponde al nome dato nei testi del Capitolo 3. E' anche indicato il sinonimo corrispondente alle regole dei testi del "Chemical Abstract".

add01 C₂₄H₃₈O₄. [117-81-7] PM RN 74640.



(2RS)-2-etilesil benzene-1,2-dicarbossilato

sinonimi

- **di(2-etilesil)ftalato**,
- acido 1,2-benzenedicarbossilico,
- bis(2-etilesil) estere.

add02 C₁₆H₃₀O₄Zn. [136-53-8] PM RN 54120.

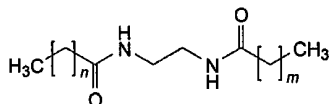


zinco (2RS)-2-etilesanoato

sinonimi

- **zinco ottanoato**,
- acido 2-etilesanoico, sale di zinco (2:1),
- zinco 2-etilcaproato.

add03 [05518-18-3]/[00110-30-5]. PM RN 53440/53520.



N,N'-etilendialcanammide (con n e m = 14 o 16)

sinonimi

- **N,N'-diaciletilendiammina**,
- N,N'-diaciletilendiammina (in questo contesto acile significa in particolare palmitoile e stearoile).

add04 [8013-07-8]. PM RN 88640.

olio di soia epossidato

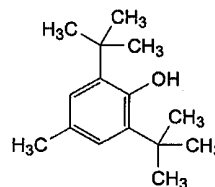
add05 [8016-11-3]. PM RN 64240.

olio di lino epossidato

add06 [57455-37-5] (TSCA)/[101357-30-6]. (EINECS)/
Pigmento blu 29 (CI 77007)

blu ultramarino

add07 C₁₅H₂₄O. [128-37-0]. PM RN 46640.

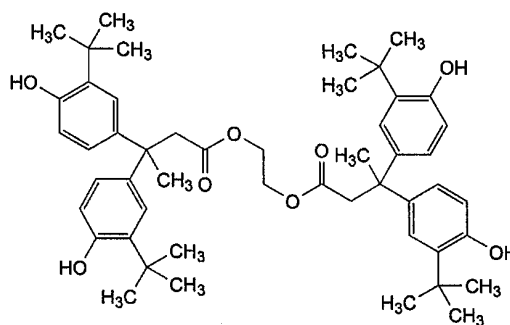


2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenolo

sinonimi

- **butilidrossitoluene**,
- 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenolo,
- 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenolo.

add08 C₅₀H₆₆O₈. [32509-66-3]. PM RN 53670.

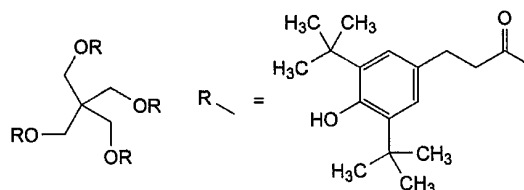


etilene bis[3,3-bis[3-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]butanoato

sinonimi

- **etilene bis[3,3-bis[3-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]butanoato**,
- acido butanoico, 3,3-bis[3-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]-, 1,2-etanedil estere,
- etilene bis[3,3-bis(3-*tert*-butil-4-idrossifenil)butirato].

add09 C₇₃H₁₀₈O₁₂. [6683-19-8]. PM RN 71680.

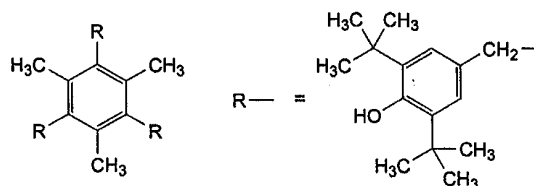


metantetriltetrametil tetrakis[3-[3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]propanoato]

sinonimi

- **pentaeiritrile tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil)propionato],**
- 2,2-bis[[[3-[3,5-bis-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]propanoil]ossi]metil]propano-1,3-diil-3-[3,5-bis-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]propanoato,
- acido benzenepropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-idrossi-2,2-bis(idrossimetil)propano-1,3-diolo estere (4:1),
- 2,2-bis(idrossimetil)propano-1,3-dioltetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil)propionato].

add10 C₅₄H₇₈O₃. [1709-70-2]. PM RN 95200.

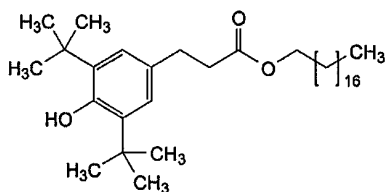


4,4',4''-[(2,4,6-trimetilbenzene-1,3,5-triil)tris(metilene)]-tris[2,6-bis(1,1-dimetiletil)fenolo]

sinonimi

- **2,2',2'',6,6',6''-esa-*tert*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benzenetriil)trismetilene]trifenolo,**
- 1,3,5-tris[3,5-di-*tert*-butil-4-idrossibenzil]-2,4,6-trimetilbenzene,
- 4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benzenetriil)tris(metilene)]tris[2,6-bis(1,1-dimetiletil)-fenolo].

add11 C₃₅H₆₂O₃. [2082-79-3]. PM RN 68320.

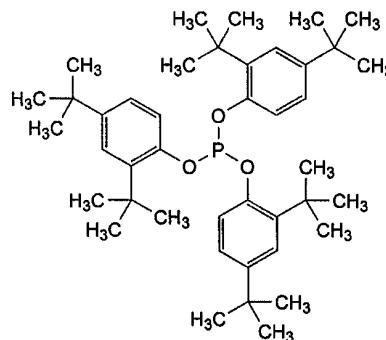


ottadecile 3-[3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]propionato

sinonimi

- **ottadecile 3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil)propionato,**
- acido propanoico, 3-[3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]-, ottadecil estere.

add12 C₄₂H₆₃O₃P. [31570-04-4]. PM RN 74240.

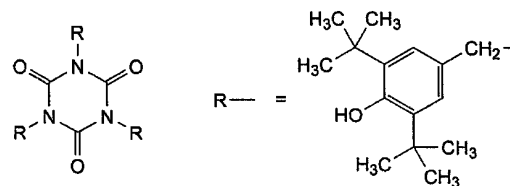


tris[2,4-bis(1,1-dimetiletil)fenil]fosfito

sinonimi

- **tris(2,4-di-*tert*-butilfenil) fosfito,**
- fenolo, 2,4-bis(1,1-dimetiletil)-, fosfito (3:1),
- 2,4-bis(1,1-dimetiletil)fenil, fosfito.

add13 C₄₈H₆₉N₃O₆. [27676-62-6]. PM RN 95360.

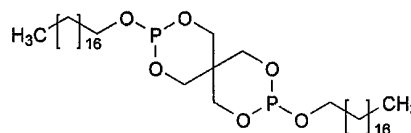


1,3,5-tris[3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-idrossibenzil]-1,3,5-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione

sinonimi

- **1,3,5-tris(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossibenzil)-s-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione,**
- 1,3,5-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione, 1,3,5-tris[3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]metil]-.

add14 C₄₁H₈₂O₆P₂. [3806-34-6]. PM RN 50080.



3,9-bis(ottadecilossi)-2,4,8,10-tetraossa-3,9-difosfapiro[5.5]undecano

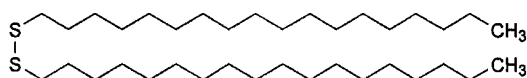
sinonimi

- **2,2'-bis(ottadecilossi)-5,5'-spirobi[1,3,2-diossafo-sfinano].**

Additivi per plastica

- 2,4,8,10-tetraossa-3,9-difosfospiro[5.5]undecano, 3,9-bis(ottadecilossi)-.

add15 C₃₆H₇₄S₂. [2500-88-1]. PM RN 49840.

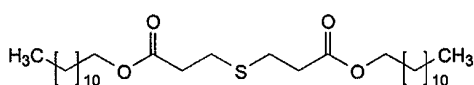


1,1'-disulfanodiildottadecano

sinonimi

- **diottadecile disolfuro**,
- ottadecano, 1,1'-ditio-

add16 C₃₀H₅₈O₄S. [123-28-4]. PM RN 93120.

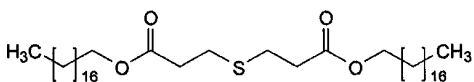


didodecil 3,3'-sulfanodiildipropionato

sinonimi

- **didodecil 3,3'-tiodipropionato**,
- didodecil 3,3'-sulfanodiildipropionato,
- acido propanoico, 3,3'-tiobis-, dodecil diestere,
- lauril tiodipropionato.

add17 C₄₂H₈₂O₄S. [693-36-7]. PM RN 93280.



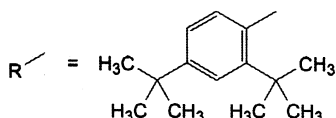
diottadecil 3,3'-sulfandiildipropionato

sinonimi

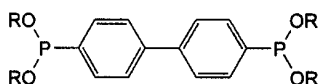
- **diottadecil 3,3'-tiodipropionato**,
- diottadecil 3,3'-sulfanodiildipropionato,
- acido propanoico, 3,3'-tiobis-, ottadecil diestere,
- stearil tiodipropionato.

add18 [119345-01-6]. PM RN 92560.

miscela di sette prodotti corrispondenti al prodotto di reazione fra di-*tert*-butil fosfonito e tricloruro difosforoso, ai prodotti di reazione con difenil e 2,4-bis(1,1-dimetiletil)fenolo:

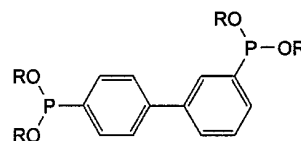


componente I



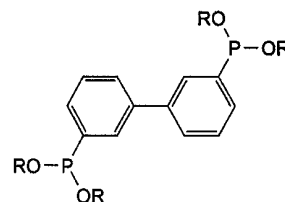
2,4-bis(1,1-dimetelel)fenil difenil-4,4'-diildifosfonito

componente II



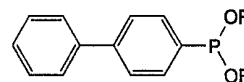
2,4-bis(1,1-dimetelel)fenil difenil-3,4'-diildifosfonito

componente III



2,4-bis(1,1-dimetelel)fenil difenil-3,3'-diildifosfonito

componente IV

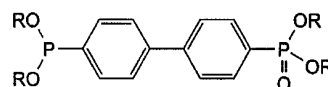


2,4-bis(1,1-dimetelel)fenil difenil-4-ilfosfonito

componente V

2,4-bis(1,1-dimetelel)fenil fosfito

componente VI



2,4-bis(1,1-dimetelel)fenil 4'-bis(1,1-dimetelel)fenossifosfanildifenil-4-ilfosfonato

componente VII

R-OH: 2,4-bis(1,1-dimetelel)fenolo

add19 C₁₈H₃₆O₂. [57-11-4]. PM RN 24550



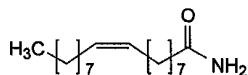
Materiali a base di polivinile cloruro plastif. per cont.ri per soluz. acquose per infus.ne endovenosa

acido ottadecanoico

sinonimi

- **acido stearico**,
- acido ottadecanoico.

add20 C₁₈H₃₅NO. [301-02-0]. PM RN 68960.

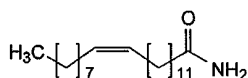


(Z)-ottadec-9-enammide

sinonimi

- **oleammide**,
- 9-ottadecenammide, (Z)-,
- 9-*cis*-oleammide.

add21 C₂₂H₄₃NO. [112-84-5]. PM RN 52720.

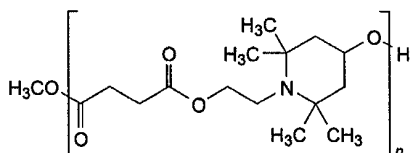


(Z)-docos-13-enammide

sinonimi

- **erucammide**,
- 13-docosenammide, (Z)-,
- 13-*cis*-docosenammide.

add22 [65447-77-0]. PM RN 60800



copolimero di dimetil butanedioato e 1-(2-idrossietil)-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-4-olo

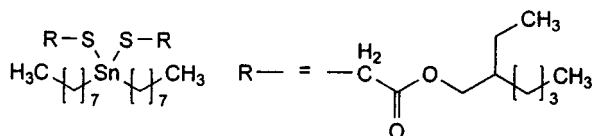
sinonimi

- **copolimero di dimetil succinato e (4-idrossi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)etanolo**.

add23.

miscela del componente I e circa il 27 per cento del componente II

componente I [26401-97-8]

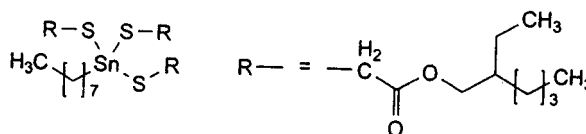


bis[(2RS)-2-etilesil]2,2'-[(diottilstannanetriil)bis-(sulfanediil)]diacetato

sinonimi: - **di(isoottil) 2,2'-[(diottilstannilene)-bis(tio)] diacetato**,

- bis(isoottilossicarbonilmetiltio)-diottilstannano

componente II [26401-86-5]



tris[(2RS)-2-etilesil] 2,2',2''-[(ottilstannanetriil)tris-(sulfanediil)]triacetato

sinonimi: - **tri(isoottil) 2,2',2''-[(monoottilstannilidene)-tris(tio)]triacetato**,

- 2,2',2''-[(ottilstannilidene)tris(tio)]triacetico, acido, triisoottil estere

3.1.14. MATERIALI A BASE DI POLIVINILE CLORURO PLASTIFICATO PER CONTENITORI PER SOLUZIONI ACQUOSE PER INFUSIONE ENDOVENOSA

DEFINIZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato contengono non meno del 55 per cento di polivinile cloruro e contengono vari additivi, oltre a polimeri ad elevata massa molecolare ottenuti per polimerizzazione del cloruro di vinile.

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per soluzioni acquose per infusione endovenosa sono definiti dalla natura e dalle proporzioni delle sostanze utilizzate nella loro produzione.

PRODUZIONE

I materiali a base di polivinile cloruro plastificato sono prodotti con metodi di polimerizzazione che assicurano un residuo di vinile cloruro inferiore a 1 ppm. Il metodo utilizzato per la produzione è validato per dimostrare che il prodotto soddisfa al seguente saggio:

Vinile cloruro. Non più di 1 ppm, determinato mediante gas cromatografia a spazio di testa (2.2.28), utilizzando *etere R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Utilizzando una microsiringa, iniettare 10 µl di *etere R* in 20,0 ml di *dimetilacetammide R*, immergendo la punta dell'ago nel solvente. Immediatamente prima dell'uso, diluire la soluzione a 1000 volte il suo volume con *dimetilacetammide R*.

Soluzione in esame. Introdurre 1,000 g del materiale in esame in un flaconcino da 50 ml ed aggiungere 10,0 ml della soluzione dello standard interno. Chiudere il flaconcino e fissare il tappo. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre il flaconcino su b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Soluzione madre di vinile cloruro. Preparare sotto cappa ventilata. Introdurre 50,0 ml di *dimetilacetammide R* in un flaconcino da 50 ml, chiudere, fissare il tappo e pesare con la precisione di 0,1 mg. Riempire una siringa di polietilene o di polipropilene da 50 ml con *vinile cloruro R* gassoso, lasciare che il gas rimanga a contatto con la siringa per circa 3 min, vuotare la siringa e riempirla di nuovo con 50 ml di *vinile cloruro R* gassoso. Applicare alla siringa un ago ipodermico e ridurre il volume di gas nella siringa da 50 ml a 25 ml. Iniettare lentamente questi 25 ml di vinile cloruro nel flaconcino, agitando leggermente ed evitando il contatto fra il liquido e l'ago. Pesare di nuovo il flaconcino; l'aumento di massa è di circa 60 mg (1 µl della soluzione così ottenuta contiene circa 1,2 µg di vinile cloruro). Lasciare riposare per 2 h. Conservare la soluzione madre in frigorifero.

Vinile cloruro soluzione standard. Ad 1 volume della soluzione madre di vinile cloruro aggiungere 3 volumi di *dimetilacetammide R*.

Soluzioni di riferimento. Introdurre 10,0 ml della soluzione dello standard interno in ciascuno di sei flaconcini da 50 ml. Chiudere i flaconcini e fissare i tappi. Iniettare in cinque flaconcini, rispettivamente, 1 µl, 2 µl, 3 µl, 5 µl e 10 µl della soluzione standard di vinile cloruro. Le sei soluzioni così ottenute contengono, rispettivamente, 0 µg, circa 0,3 µg, 0,6 µg, 0,9 µg, 1,5 µg e 3 µg di vinile cloruro. Agitare, evitando il contatto tra il tappo e il liquido. Porre i flaconcini su b.m. a 60 ± 1 °C per 2 h.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 3 m e con un diametro interno di 3 mm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con il 5 per cento *m/m* di *dimetilstearylammide R* e con il 5 per cento *m/m* di *macrogol 400 R*,
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di 30 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 45 °C, quella della camera di iniezione a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Iniettare 1 ml dello spazio di testa di ciascun flaconcino. Calcolare il contenuto di vinile cloruro.

Additivi

Un certo numero di additivi viene addizionato ai polimeri per ottimizzare le loro caratteristiche chimiche, fisiche e meccaniche e renderli così più adatti all'uso previsto. Tutti questi additivi sono scelti dalla lista seguente che specifica per ogni prodotto il quantitativo massimo permesso:

- non più del 40 per cento di di(2-etilesil)ftalato (additivo per plastica 01),
- non più dell'1 per cento di zinco ottanoato (zinco 2-etilesanoato) (additivo per plastica 02),
- non più dell'1 per cento di calcio stearato o di zinco stearato o dell'1 per cento di una miscela dei due,
- non più dell'1 per cento di *N,N'*-diaciletilendiammina (additivo per plastica 03)
- non più del 10 per cento di uno dei due oli epossidati seguenti o non più del 10 per cento di una loro miscela:
 - olio di soia epossidato (additivo per plastica 04), il cui titolo in ossigeno ossiranicico è compreso tra il 6 per cento e l'8 per cento e il cui indice di iodio non è superiore a 6,
 - olio di lino epossidato (additivo per plastica 05), il cui titolo in ossigeno ossiranicico non è superiore al 10 per cento e il cui indice di iodio non supera il 7.

Quando sono aggiunti coloranti, il blu ultramarino è l'unico colorante usato. Altri pigmenti inorganici possono essere aggiunti, purché la loro sicurezza sia dimostrata con approvazione dell'autorità competente. Quantità molto piccole di antiossidanti aggiunti al monomero vinile cloruro possono essere presenti nel polimero.

Il produttore del materiale deve essere in grado di dimostrare che la composizione qualitativa e quantitativa del campione tipo sia soddisfacente per ogni lotto di produzione.

CARATTERI

Materiale incolore o giallo pallido in forma di polvere, palline, granuli o, dopo trasformazione, lamine traslucide di spessore variabile, con un leggero odore. Per combustione produce un fumo nero e denso.

IDENTIFICAZIONE

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

A 2,0 g del materiale in esame aggiungere 200 ml di etere esente da perossidi R e scaldare a ricadere per 8 h. Separare per filtrazione il residuo B e la soluzione A.

Evaporare a secco la soluzione A a pressione ridotta a b.m. a 30 °C. Disciogliere il residuo in 10 ml di toluene R (soluzione A1). Disciogliere il residuo B in 60 ml di dicloroetano R, scaldando a ricadere su b.m. Filtrare. Aggiungere la soluzione, goccia a goccia ed agitando energicamente, a 600 ml di eptano R scaldato quasi all'ebollizione. Separare il coagulo B1 dalla soluzione organica per filtrazione. Lasciare raffreddare quest'ultima; separare il precipitato B2 che si forma e filtrare attraverso un filtro di vetro poroso tarato (40) (2.1.2).

A. Disciogliere il coagulo B1 in 30 ml di tetraidrofurano R e aggiungere, poco per volta e agitando, 40 ml di etanolo R. Separare per filtrazione il precipitato B3 ed essiccare sotto vuoto su anidride fosforica R a una temperatura non superiore a 50 °C. Disciogliere pochi milligrammi di precipitato B3 in 1 ml di tetraidrofurano R, mettere poche gocce della soluzione ottenuta su una lamina di sodio cloruro ed evaporare a secco in stufa a 100-105 °C. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con polivinile cloruro SCR.

B. Esaminare il residuo C ottenuto nel saggio degli additivi per plastica 01, 04 e 05 mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con l'additivo per plastica 01 SCR.

SAGGI

Se necessario, prima dell'uso, tagliare i campioni del materiale da esaminare in pezzi della dimensione massima su un lato non superiore a 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 5,0 g in un matraccio da combustione. Aggiungere 30 ml di acido solforico R e scaldare fino ad ottenere una massa sciropposa nera. Raffreddare ed aggiungere, con cautela, 10 ml di idrogeno perossido soluzione concentrata R. Scaldare leggermente. Lasciar raffreddare ed aggiungere 1 ml di idrogeno perossido soluzione concentrata R; ripetere alternando l'evaporazione e l'aggiunta di idrogeno

perossido soluzione fino ad ottenere un liquido incolore. Concentrare fino a circa 10 ml. Raffreddare e diluire a 50,0 ml con acqua R.

Soluzione S₂. Introdurre 25 g in un pallone di vetro borosilicato. Aggiungere 500 ml di acqua per preparazioni iniettabili R e coprire il collo del pallone con un foglio di alluminio o con un beaker di vetro borosilicato. Scaldare in autoclave a 121 ± 2 °C per 20 min. Lasciar raffreddare e decantare la soluzione.

Aspetto della soluzione S₂. La soluzione S₂ è limpida (2.2.1) e incolore (Metodo II, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 100 ml di soluzione S₂, aggiungere 0,15 ml di BRP indicatore soluzione R. Non sono necessari più di 1,5 ml di sodio idrossido 0,01 M per far virare al blu l'indicatore. A 100 ml di soluzione S₂ aggiungere 0,2 ml di metilarancio soluzione R. Perché inizi il viraggio dell'indicatore da giallo ad arancio non è necessario più di 1,0 ml di acido cloridrico 0,01 M.

Assorbanza (2.2.25). Evaporare a secco 100,0 ml di soluzione S₂. Disciogliere il residuo in 5,0 ml di esano R. L'assorbanza, a lunghezza d'onda compresa tra 250 nm e 310 nm, non è superiore a 0,25.

Sostanze riducenti. Effettuare il saggio entro 4 h dalla preparazione della soluzione S₂. A 20,0 ml di soluzione S₂ aggiungere 1 ml di acido solforico diluito R e 20,0 ml di potassio permanganato 0,002 M. Bollire a ricadere per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di potassio ioduro R e titolare immediatamente con sodio tiosolfato 0,01 M, usando 0,25 ml di amido soluzione R, come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco usando 20 ml di acqua per preparazioni iniettabili R. La differenza fra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 2,0 ml.

Ammine aromatiche primarie. A 2,5 ml di soluzione A1, ottenuta durante l'identificazione, aggiungere 6 ml di acqua R e 4 ml di acido cloridrico 0,1 M. Agitare energicamente ed eliminare la fase superiore. Alla fase acquosa aggiungere 0,4 ml di una soluzione (10 g/l) di sodio nitrito R preparata di recente. Mescolare e lasciare a riposo per 1 min. Aggiungere 0,8 ml di una soluzione (25 g/l) di ammonio solfammato R, lasciare a riposo per 1 min e aggiungere 2 ml di una soluzione (5 g/l) di naftiletildiammina dicloridrato R. Dopo 30 min, l'eventuale colorazione della soluzione non è più intensa di quella di una preparazione di riferimento preparata contemporaneamente nello stesso modo utilizzando una miscela di 1 ml di una soluzione (0,01 g/l)

di *naftilamina R* in *acido cloridrico 0,1 M*, 5 ml di *acqua R* e 4 ml di *acido cloridrico 0,1 M* al posto della fase acquosa (20 ppm).

Additivi per plastica 01, 04 e 05. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una *lastra di gel di silice GF₂₅₄ R*, di 1 mm di spessore.

Soluzioni di riferimento. Preparare soluzioni con 0,1 mg/ml di *additivo per plastica 01 SCR*, *additivo per plastica 04 SCR* e *additivo per plastica 05 SCR* rispettivamente, in *toluene R*.

Deporre sulla lastra, come una banda di 30 mm per 3 mm, 0,5 ml della soluzione A1, ottenuta durante l'identificazione. Deporre sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 15 cm usando *toluene R*. Seccare accuratamente la lastra. Esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm e localizzare la zona corrispondente all'additivo per plastica 01 (R_f circa 0,4). Rimuovere l'area di gel di silice corrispondente a questa zona e agitare con 40 ml di *etere R* per 1 min. Filtrare, sciacquare con due porzioni, ciascuna di 10 ml di *etere R*, aggiungere i liquidi di risciacquo al filtrato ed evaporare a secco. Il residuo C pesa non più di 40 mg.

Esporre la lastra a vapori di iodio per 5 min. Esaminare il cromatogramma e localizzare la banda corrispondente agli additivi per plastica 04 e 05 ($R_f = 0$). Prelevare l'area di gel di silice corrispondente a questa banda. Allo stesso modo, prelevare un'area corrispondente di gel di silice come bianco. Agitare separatamente entrambi i campioni per 15 min con 40 ml di *metanolo R*. Filtrare, sciacquare con due porzioni, ciascuna di 10 ml di *metanolo R*, aggiungere i liquidi di risciacquo al filtrato ed evaporare a secco. La differenza fra le masse non è superiore a 10 mg.

Additivo per plastica 03. Lavare il precipitato B2 ottenuto durante l'identificazione e trattenuto sul filtro di vetro sinterizzato tarato (40) (2.1.2) con *etanolo R*. Seccare a massa costante su *anidride fosforica R* e pesare il filtro. Il precipitato pesa non più di 20 mg.

Esaminare il residuo mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con l'*additivo per plastica 03 SCR*.

Bario. Non più di 5,0 ppm di Ba, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Calcinare 1,0 g di materiale in esame in un crogiolo di silice. Riprendere il residuo

con 10 ml di *acido cloridrico R* ed evaporare a secco su b.m. Riprendere il residuo con 20 ml di *acido cloridrico 0,1 M*.

Soluzione di riferimento. E' una soluzione contenente 0,25 ppm di bario preparata per diluizione di una *soluzione standard di bario (Ba 50 ppm) R* con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del bario a 455,40 nm, valutando il fondo spettrale a 455,30 nm.

Verificare l'assenza di bario nell'acido cloridrico usato.

Cadmio. Non più di 0,6 ppm di Cd, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Evaporare a secco 10 ml della soluzione S₁. Riprendere il residuo con 5 ml di una soluzione all'1 per cento V/V di *acido cloridrico R*, filtrare e diluire il filtrato a 10,0 ml con lo stesso acido.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando una *soluzione standard di cadmio (Cd 0,1 per cento) R*, diluita con una soluzione all'1 per cento V/V di *acido cloridrico R*.

Misurare l'assorbanza a 228,8 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al cadmio ed una fiamma aria-acetilene.

Verificare l'assenza di cadmio nell'acido cloridrico usato.

Calcio. Non più dello 0,07 per cento di Ca, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Usare la soluzione in esame preparata per la determinazione del bario.

Soluzione di riferimento. Preparare la soluzione di riferimento contenente 50,0 ppm di calcio per diluizione di una *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R* con *acido cloridrico 0,1 M*.

Effettuare la determinazione usando l'emissione del calcio a 315,89 nm, valutando il fondo spettrale a 315,60 nm.

Verificare l'assenza di calcio nell'acido cloridrico usato.

Stagno. Non più di 20,0 ppm di Sn, determinato mediante spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire la soluzione S₁ dieci volte con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Soluzione di riferimento. Introdurre 2 ml di una *soluzione standard di stagno (Sn 5 ppm) R* in un pallone da

50 ml contenente 5 ml di *acido solforico soluzione al 20 per cento V/V R* e diluire a 50 ml con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Effettuare la determinazione usando l'emissione dello stagno a 189,99 nm, valutando il fondo spettrale a 190,10 nm.

Verificare l'assenza di stagno nell'acido solforico usato.

Zinco. Non più dello 0,20 per cento di Zn, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire la soluzione S₁ 100 volte con *acido cloridrico 0,1 M*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando una *soluzione standard di zinco (Zn 100 ppm) R* diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Misurare l'assorbanza a 213,9 nm usando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo allo zinco ed una fiamma aria-acetilene.

Verificare l'assenza di zinco nell'acido cloridrico usato.

Metalli pesanti (2.4.8). A 10 ml della soluzione S₁ aggiungere 0,5 ml di *fenoltaleina soluzione R* e poi *sodio idrossido soluzione concentrata R* fino a debole colorazione rosa. Diluire a 25 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (50 ppm). Preparare la soluzione di riferimento usando una *soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm) R*.

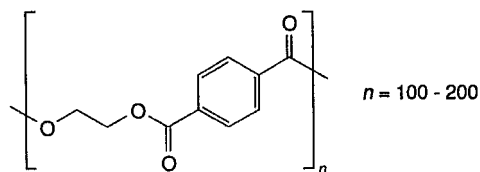
Sostanze estraibili in acqua. Evaporare 50 ml della soluzione S₂ a secco a b.m. ed essiccare a 100-105 °C fino a massa costante. Effettuare un saggio in bianco con 50,0 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. Il residuo pesa non più di 7,5 mg (0,3 per cento) considerando il saggio in bianco.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Eseguire il metodo della combustione in ossigeno (2.5.10) usando 50,0 mg. Far assorbire i prodotti di combustione in 20 ml di *sodio idrossido 1 M*. Alla soluzione ottenuta aggiungere 2,5 ml di *acido nitrico R*, 10,0 ml di *argento nitrato 0,1 M*, 5 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* ed 1 ml di *dibutile ftalato R*. Titolare con *ammonio tiocianato 0,05 M* fino a colorazione giallo-rossastra. Effettuare una determinazione in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 6,25 mg di polivinile cloruro.

3.1.15. POLIETILENE TEREFALATO PER CONTENITORI PER PREPARAZIONI PER USO NON PARENTERALE



DEFINIZIONE

Il polietilene tereftalato si ottiene mediante polimerizzazione dell'acido tereftalico o dimetiltereftalato con glicole etilenico. Nella polimerizzazione possono essere usati l'acido isoftalico, dimetilisofalato, 1,4-bis(idrossimetil)cicloesano (cicloesano-1,4-dimetanolo) o glicole dietilenico. Può contenere non più dello 0,5 per cento di silice o silicati e coloranti approvati dall'autorità competente.

PRODUZIONE

Il processo di produzione è validato per dimostrare che il contenuto residuo di acetaldeide non è maggiore di 10 ppm nei granuli.

CARATTERI

Aspetto: granuli trasparente ed opachi.

Solubilità: praticamente insolubile in acqua, in alcool e in diclorometano. È idrolizzato da basi forti.

IDENTIFICAZIONE

A. Introdurre 0,10 g di materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 25 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio idrossido R* in una soluzione al 50 per cento V/V di *etanolo R*. Bollire a ricadere per 30 min. Lasciare raffreddare e diluire a 100 ml con *acqua R*. Filtrare se necessario. Diluire 1,0 ml del filtrato a 100 ml con

acqua R. Esaminata tra 210 nm e 330 nm (2.2.25), la soluzione presenta un massimo di assorbimento a 240 nm.

- B. Disciogliere 0,05 g del materiale in esame in 2 ml di *1,1,1,3,3,3-esafluoropropan-2-olo R*. Deporre su una lastra di vetro a b.m. in una cappa diverse gocce della soluzione fino ad ottenere una pellicola di circa 15 mm per 15 mm. Lasciare evaporare il solvente e rimuovere la pellicola utilizzando una corrente di acqua e un raschietto. Essiccare in stufa a 100-105 °C per 1-2 h. Esaminare la pellicola mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro del materiale in esame mostra massimi di assorbimento in particolare a 1725 cm⁻¹, 1410 cm⁻¹, 1265 cm⁻¹, 1120 cm⁻¹, 1100 cm⁻¹, 1020 cm⁻¹, 875 cm⁻¹, 725 cm⁻¹. Inoltre lo spettro ottenuto è identico a quello ottenuto con il materiale selezionato come campione tipo.

SAGGI

Se necessario, tagliare i campioni per il saggio in pezzi della dimensione massima per lato di 1 cm.

Soluzione S₁. Introdurre 10,0 g del materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 200 ml di *acqua R* e scaldare a 50 °C per 5 h. Lasciare raffreddare e decantare la soluzione. *Utilizzare la soluzione S₁ entro 4 h dalla sua preparazione.*

Soluzione S₂. Introdurre 10 g del materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 100 ml di *alcool R* e scaldare a 50 °C per 5 h. Lasciare raffreddare e decantare la soluzione. *Utilizzare la soluzione S₂ entro 4 h dalla sua preparazione.*

Soluzione S₃. Introdurre 20 g del materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 50 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e scaldare a 50 °C per 5 h. Lasciare raffreddare e decantare la soluzione. *Utilizzare la soluzione S₃ entro 4 h dalla sua preparazione.*

Soluzione S₄. Introdurre 20 g del materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 50 ml di *sodio idrossido 0,01 M* e scaldare a 50 °C per 5 h. Lasciare raffreddare e decantare. *Utilizzare la soluzione S₄ entro 4 h dalla sua preparazione.*

Aspetto della soluzione S₁. La soluzione S₁ è limpida (2.2.1).

Aspetto della soluzione S₂. La soluzione S₂ è limpida (2.2.1) ed incolore (2.2.2, *Metodo II*).

Acidità o alcalinità. A 50 ml di soluzione S₁, aggiungere 0,15 di *BRP indicatore soluzione R*. La soluzione vira al giallo. Non sono necessari più di 0,5 ml di *sodio idrossido 0,01 M* per far virare al blu l'indicatore. Ad altri 50 ml di soluzione S₁ aggiungere 0,2 ml di *metil-arancio soluzione R*. La soluzione vira al giallo. Non sono necessari più di 0,5 ml di *acido cloridrico 0,01 M* perché inizi il viraggio dell'indicatore all'arancio.

Assorbanza della soluzione S₁ (2.2.25). Massimo 0,20 tra 220 nm e 340 nm. Inoltre, per polietilene tereftalato colorato: massimo 0,05 tra 400 nm e 800 nm.

Assorbanza della soluzione S₂ (2.2.25). Massimo 0,05 tra 400 nm e 800 nm.

Sostanze riducenti. Aggiungere 2 ml di *acido solforico 0,5 M* e 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M* a 20,0 ml di soluzione S₁. Bollire per 3 min. Raffreddare immediatamente a temperatura ambiente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R*, 0,25 ml di *amido soluzione R* come indicatore e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M*. Effettuare una titolazione in bianco usando 20,0 ml di *acqua R*. La differenza fra i volumi utilizzati nelle due titolazioni non è superiore a 0,5 ml.

Sostanze solubili in diossano. Massimo 3 per cento.

Introdurre 2 g del materiale in esame in un pallone di vetro borosilicato con collo a smeriglio. Aggiungere 20 ml di *diossano R* e scaldare a ricadere per 2 h. Evaporare 10 ml della soluzione a secco su b.m. ed essiccare il residuo in stufa a 100-105 °C. Il residuo non pesa più di 30 mg.

Alluminio estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di alluminio (Al 200 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Lunghezza d'onda. 396,15 nm, considerando il fondo spettrale a 396,25 nm.

Verificare l'assenza di alluminio nell'*acido cloridrico 0,1 M* usato.

Antimonio estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₄.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di antimonio (Sb 100 ppm) R*, diluita con *sodio idrossido 0,01 M*.

Lunghezza d'onda. 231,15 nm o 217,58 nm, considerando il fondo spettrale a 231,05 nm.

Bario estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di bario (Ba 50 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Lunghezza d'onda. 455,40 nm, considerando il fondo spettrale a 455,30 nm.

Verificare l'assenza di bario nell'*acido cloridrico 0,1 M* usato.

Cobalto estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di cobalto (Co 100 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Lunghezza d'onda. 228,62 nm, considerando il fondo spettrale a 228,50 nm.

Verificare l'assenza di cobalto nell'*acido cloridrico 0,1 M* usato.

Germanio estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₄.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di germanio (Ge 100 ppm) R*, diluita con *sodio idrossido 0,01 M*.

Lunghezza d'onda. 206,87 nm o 265,12 nm, considerando il fondo spettrale a 206,75 nm.

Manganese estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di manganese (Mn 100 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Lunghezza d'onda. 257,61 nm, considerando il fondo spettrale a 257,50 nm.

Verificare l'assenza di manganese nell'*acido cloridrico 0,1 M* usato.

Titanio estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di titanio (Ti 100 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Lunghezza d'onda. 323,45 nm o 334,94 nm, considerando il fondo spettrale a 323,35 nm.

Verificare l'assenza di titanio nell'*acido cloridrico 0,1 M* usato.

Zinco estraibile. Non più di 1,0 ppm.

Spettrometria di emissione atomica in plasma di argon (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Soluzione S₃.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando una *soluzione standard di zinco (Zn 100 ppm) R*, diluita con *acido cloridrico 0,1 M*.

Lunghezza d'onda. 213,86 nm, considerando il fondo spettrale a 213,75 nm.

Verificare l'assenza di zinco nell'*acido cloridrico 0,1 M* usato.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,5 per cento, determinate su 1,0 g.

3.2. Contenitori

3.2.	Contenitori	497	3.2.5.	Contenitori sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per sangue umano contenenti una soluzione anticoagulante	511
3.2.1	Contenitori di vetro per uso farmaceutico	497	3.2.6.	Apparati tubolari per la trasfusione di sangue e sue frazioni	512
3.2.2.	Contenitori e chiusure in plastica per uso farmaceutico	505	3.2.8.	Siringhe di plastica monouso sterili	514
3.2.2.1.	Contenitori in plastica per soluzioni acquose per infusione.	506	3.2.9.	Chiusure in materiale elastomero per contenitori per preparazioni acquose ad uso parenterale, per polveri e per polveri liofilizzate . .	516
3.2.3.	Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni	507			
3.2.4.	Contenitori vuoti sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per sangue umano e sue frazioni.	510			

3.2. CONTENITORI

Un contenitore (*) per uso farmaceutico è un oggetto che contiene o che è destinato a contenere un prodotto con il quale è, o può essere, in contatto diretto. La chiusura fa parte del contenitore.

Il contenitore (vedi *Prescrizioni generali, sezione 1.1.3.*) è costruito così da permettere che il contenuto possa esser prelevato in modo appropriato all'uso previsto della preparazione. Assicura diversi gradi di protezione, in funzione della natura del prodotto e dei rischi dell'ambiente e rende minima la perdita dei costituenti. Il contenitore non interagisce fisicamente o chimicamente col contenuto in modo da alterarne le qualità oltre i limiti tollerati dalle prescrizioni ufficiali.

Contenitore monodose. Un contenitore monodose contiene una quantità di preparazione destinata ad essere usata tutta o in parte, una sola volta.

Contenitore multidose. Un contenitore multidose contiene una quantità di preparazione appropriata per due o più somministrazioni.

Contenitore ben chiuso. Un contenitore ben chiuso protegge il contenuto da contaminazioni con solidi e liquidi estranei e da perdite di contenuto, in condizioni normali di manipolazione, conservazione e trasporto.

Contenitore ermeticamente chiuso. Un contenitore ermeticamente chiuso è impermeabile a solidi, liquidi e gas in condizioni normali di manipolazione, conservazione e trasporto. Se è previsto che il contenitore debba essere aperto per più di una occasione, esso deve essere realizzato in modo da restare ermetico dopo la chiusura.

Contenitore saldato. Un contenitore saldato è un contenitore chiuso per fusione del materiale che lo costituisce.

Contenitore con chiusura inviolabile. Un contenitore con chiusura inviolabile è un contenitore chiuso con un dispositivo che rivela in modo irreversibile se il recipiente è stato aperto.

Contenitore a prova di bambino. E' un contenitore dotato di una chiusura che impedisce l'apertura da parte di bambini.

(*) Nei testi della Farmacopea in lingua italiana si usa spesso, in luogo del termine "Contenitore", il sinonimo "Recipiente".

3.2.1. CONTENITORI DI VETRO PER USO FARMACEUTICO

I contenitori di vetro per uso farmaceutico sono oggetti in vetro destinati a venire in contatto diretto con preparazioni farmaceutiche.

Vetro incolore. Il vetro incolore è molto trasparente nello spettro visibile.

Vetro colorato. Si ottiene per aggiunta di piccole quantità di ossidi metallici scelti in funzione dell'assorbimento spettrale desiderato.

Vetro neutro. E' un vetro borosilicato contenente notevoli quantità di ossido di boro, di ossido di alluminio ed ossidi di metalli alcalino-terrosi. Data la sua composizione, il vetro neutro ha alta resistenza agli sbalzi termici ed elevata resistenza idrolitica.

Vetro silico-sodico-calcico. E' un vetro siliceo contenente ossidi di metalli alcalini, principalmente ossido di sodio, ed ossidi di metalli alcalino-terrosi, specialmente ossido di calcio. Per la sua composizione, questo vetro ha una moderata resistenza idrolitica.

La stabilità chimica dei contenitori in vetro per uso farmaceutico è espressa dalla resistenza idrolitica, cioè dalla resistenza a cedere all'acqua sostanze minerali solubili, in precise condizioni di contatto fra acqua e superficie interna del contenitore o vetro polverizzato. La resistenza idrolitica viene misurata per titolazione degli alcali rilasciati.

Rispetto alla loro resistenza idrolitica i contenitori in vetro vengono classificati come segue:

- Contenitori di vetro di Tipo I. Sono costituiti da vetro neutro ed hanno alta resistenza idrolitica dovuta alla composizione chimica del vetro stesso.
- Contenitori di vetro di Tipo II. Sono, di solito, costituiti da vetro silico-sodico-calcico ed hanno alta resistenza idrolitica, ottenuta per appropriato trattamento della superficie.
- Contenitori di vetro di Tipo III. Sono, di solito, di vetro silico-sodico-calcico ed hanno moderata resistenza idrolitica.

Le seguenti indicazioni, in carattere corsivo, costituiscono raccomandazioni generali d'impiego per i vari Tipi di contenitori in vetro che possono essere usati per differenti forme di preparazioni farmaceutiche.

Il fabbricante di un prodotto farmaceutico ha la responsabilità di assicurare l'idoneità del contenitore prescelto.

I contenitori di vetro di Tipo I sono, in generale, adatti per tutte le preparazioni sia di uso parenterale che non parenterale.

I contenitori di vetro di Tipo II sono, in generale, adatti per preparazioni acquose acide o neutre per uso parenterale.

I contenitori di vetro di Tipo III sono adatti per preparazioni non acquose per uso parenterale, per polveri per uso parenterale (eccetto le preparazioni liofilizzate) e per preparazioni per uso non parenterale.

In generale, si possono impiegare contenitori di vetro con resistenza idrolitica superiore a quella sopra raccomandata per un particolare tipo di preparazione.

La natura del contenitore scelto per una data preparazione dovrà essere tale da non rilasciare sostanze in quantità che influenzino la stabilità della preparazione o che presentino rischi di tossicità. Nei casi giustificati, può essere necessario avere informazioni dettagliate sulla composizione del vetro, in modo che i potenziali pericoli possano essere valutati.

Le preparazioni per uso parenterale sono normalmente presentate in vetro incolore, ma possono essere usati vetri colorati per sostanze sensibili alla luce. Per le altre preparazioni possono essere usati vetri sia incolore che colorati. Si raccomanda che tutti i contenitori di vetro per preparazioni liquide e per polveri per uso parenterale, permettano l'ispezione visiva del contenuto.

La superficie interna dei contenitori di vetro può subire speciali trattamenti per migliorarne la resistenza idrolitica, per renderla idrorepellente, ecc. Anche la superficie esterna può essere trattata, per esempio, per ridurre l'attrito e aumentare la resistenza all'abrasione. Il trattamento esterno è tale da non contaminare la superficie interna del contenitore.

Con l'eccezione del Tipo I, i contenitori di vetro per uso farmaceutico non devono essere riutilizzati. I contenitori per il sangue umano e sue frazioni non devono mai essere riutilizzati.

I contenitori di vetro per uso farmaceutico soddisfano ai saggi specifici di resistenza idrolitica. Quando un recipiente di vetro ha componenti diversi dal vetro, i saggi si applicano solo alla parte in vetro del contenitore.

Per definire la qualità dei contenitori di vetro in funzione del loro uso previsto, sono necessari uno o più dei seguenti saggi.

I saggi per la resistenza idrolitica vengono effettuati per definire il tipo di vetro (I, II o III) e controllare la sua resistenza idrolitica.

In aggiunta, i contenitori per preparazioni acquose per uso parenterale sono soggetti ad un saggio per l'arsenico e i contenitori in vetro colorato sono soggetti ad un saggio di trasmissione spettrale.

RESISTENZA IDROLITICA

Tabella 3.2.1-1. Tipi di vetro

Tipo di contenitore	Saggio da eseguire
Contenitori di vetro di Tipo I e di Tipo II (per distinguerli dai contenitori di vetro di Tipo III)	Saggio A (saggio di superficie)
Contenitori di vetro di Tipo I (per distinguerli dai contenitori di vetro di Tipo II e di Tipo III)	Saggio B (saggio sul vetro in grani) o Saggio C (saggio di corrosione)
Contenitori di vetro di Tipo I e di Tipo II quando è necessario determinare se la resistenza idrolitica elevata è dovuta alla composizione chimica o al trattamento di superficie	Saggi A e B oppure A e C

Il saggio viene eseguito mediante titolazione delle soluzioni di estrazione ottenute nelle condizioni descritte per i saggi A, B e C.

APPARECCHIATURA

- un'autoclave in grado di mantenere una temperatura di $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, dotata di termometro o di una termocoppia calibrata, manometro, valvola di sfiato e rastrelliera, di dimensioni sufficienti a sistemare sopra il livello dell'acqua il numero di contenitori necessario ad effettuare il saggio; *pulire il recipiente dell'autoclave e tutti gli accessori prima dell'uso con acqua R*;
- burette con appropriata capacità;
- palloni tarati, con capacità di 1000 ml;
- pipette e beaker;
- beute da 100 ml e da 250 ml;
- un bagnomaria;
- un foglio di metallo (per esempio alluminio o acciaio inossidabile).

I palloni e le beute devono essere stati già utilizzati per il saggio oppure essere stati riempiti con *acqua R* e tenuti in autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ per almeno 1h prima dell'uso.

DETERMINAZIONE DEL VOLUME DI RIEMPIMENTO

Il volume di riempimento è il volume di acqua da introdurre nel contenitore per eseguire il saggio. Per le botti-

glie ed i flaconcini il volume di riempimento è il 90 per cento della loro capacità a bordo raso. Per le fiale è il volume fino al livello della spalla.

Flaconcini e bottiglie. Prelevare a caso 6 contenitori dal lotto in esame oppure 3 se la loro capacità è superiore a 100 ml ed eliminare tutti i corpi estranei e residui di imballaggio (sporczia). Pesare i contenitori vuoti con una accuratezza di 0.1 g. Collocare i contenitori su una superficie orizzontale e riempirli con *acqua distillata R* fino a circa il bordo superiore evitando che il liquido debordi e l'introduzione di bolle di aria. Aggiustare il livello del liquido in rapporto al livello superiore (bordo raso) del recipiente. Pesare i recipienti riempiti per ottenere la massa di acqua espressa a 2 cifre decimali nel caso di recipienti con un volume nominale inferiore o uguale a 30 ml, ed espressa a 1 cifra decimale nel caso di recipienti con un volume nominale superiore a 30 ml. Calcolare il valore medio della capacità a bordo raso in millilitri e moltiplicarlo per 0,9. Questo volume, espresso ad 1 cifra decimale, è il volume di riempimento a bordo raso per quel lotto particolare di contenitori.

Fiale. Disporre almeno 6 fiale seccate su una superficie piana orizzontale. Con l'aiuto di una buretta, riempirle con *acqua distillata R*, fino a che il livello dell'acqua raggiunge il punto A, dove il corpo della fiala declina per formare la spalla (vedi Figura 3.2.1.-1.). Leggere le capacità ottenute a 2 cifre decimali e determinare il valore medio. Questo volume espresso ad 1 cifra decimale corrisponde al volume di riempimento per quel lotto particolare di fiale. Il volume di riempimento può anche essere determinato per pesata.

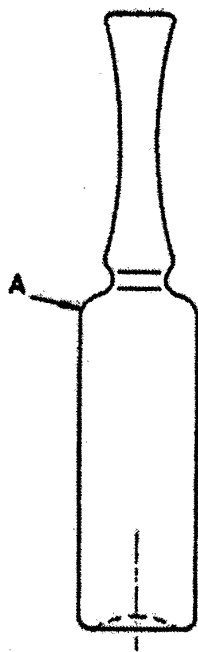


Figura 3.2.1.-1. *Volume di riempimento delle fiale (fino al punto A)*

SAGGIO A. RESISTENZA IDROLITICA DELLA SUPERFICIE INTERNA DEI CONTENITORI DI VETRO (SAGGIO DI SUPERFICIE)

La determinazione si effettua su contenitori non ancora utilizzati. I volumi di liquido necessari per il saggio finale sono indicati nella Tabella 3.2.1.-2.

Tabella 3.2.1.-2. - *Volume del liquido in esame e numero di titolazioni*

Volume di riempimento (ml)	Volume di liquido in esame da titolare (ml)	Numero di titolazioni
Fino a 3	25,0	1
Oltre 3 e fino a 30	50,0	2
Oltre 30 e fino a 100	100,0	2
Oltre 100	100,0	3

Materiali /
Contenitori

Pulizia. Eliminare i corpi estranei o la polvere. Prima del saggio, lavare accuratamente ogni contenitore almeno due volte con *acqua R* e lasciar riposare. Immediatamente prima del saggio svuotare i contenitori, risciacquare una volta con *acqua R* e poi con *acqua RI* e lasciar scolare. Completare il procedimento di pulizia a partire dal primo risciacquo in non meno di 20 min e non più di 25 min.

Riscaldare le fiale chiuse su bagnomaria o in una stufa a circa 50 °C per approssimativamente 2 min prima della loro apertura; non risciacquare prima del saggio.

Riempimento e riscaldamento. Riempire i contenitori con *acqua RI* fino al volume di riempimento. Le cartucce e le siringhe pre-riempite sono chiuse in modo adeguato con l'aiuto di un materiale che non interferisce con il saggio. Ricoprire ogni contenitore comprese le fiale con materiale inerte, per esempio cristallizzatori di vetro neutro o fogli di alluminio previamente risciacquati con *acqua R*. Porre i contenitori sulla rastrelliera dell'autoclave e collocare il tutto nell'autoclave contenente una quantità di *acqua R* tale che il livello dell'acqua resti al di sotto della rastrelliera. Chiudere l'autoclave e operare come segue:

- riscaldare l'autoclave fino a 100 °C e lasciare uscire il vapore dalla valvola per 10 min;
- chiudere la valvola e aumentare la temperatura da 100 °C a 121 °C ad una velocità di 1 °C al min;
- mantenere la temperatura a 121 °C ± 1 °C per 60 min;
- abbassare la temperatura da 121 °C a 100 °C ad una velocità di 0,5 °C al min, aprendo progressivamente la valvola di sfiato per prevenire la formazione di vuoto;
- non aprire l'autoclave prima del suo raffreddamento a 95 °C;
- togliere i contenitori dall'autoclave con le normali precauzioni, collocarli in un bagnomaria a 80 °C, e

far scorrere acqua corrente fredda, avendo cura che l'acqua utilizzata per il raffreddamento non entri in contatto con la copertura posta per evitare la contaminazione della soluzione di estrazione;

– la durata del raffreddamento non deve superare i 30 min.

Le soluzioni di estrazione sono analizzate mediante titolazione con il metodo di seguito descritto.

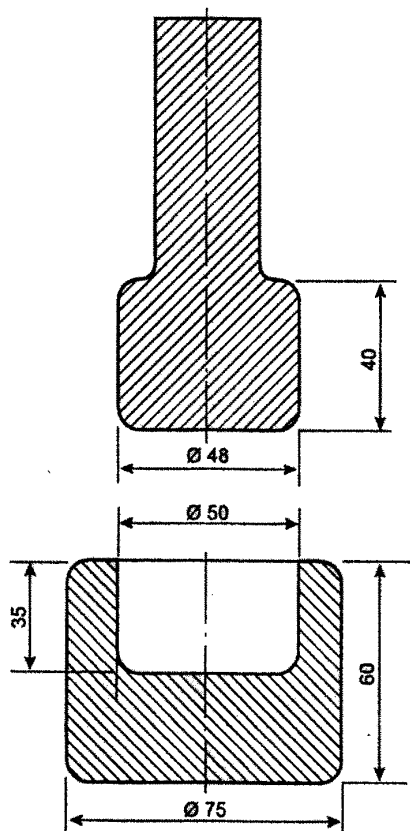


Figura 3.2.1.-2. *Apparecchio per il saggio sul vetro polverizzato (dimensioni in millimetri)*

Metodo. Effettuare la titolazione entro 1 h dalla rimozione dei contenitori dall'autoclave. Riunire i liquidi provenienti dai vari recipienti e mescolare. Prelevare il volume prescritto in Tabella 3.2.1.-2. ed introdurlo in una beuta. Porre un volume identico di *acqua R*, come bianco, in una seconda beuta uguale. Aggiungere ad ogni beuta 0,05 ml di *rosso di metile soluzione R*, per ogni 25 ml di liquido. Titolare il bianco con *acido cloridrico 0,01 M*. Titolare il liquido in esame con lo stesso acido fino ad ottenere un colore identico a quello del bianco. Sottrarre il valore ottenuto dalla titolazione del bianco da quello della titolazione del liquido in esame ed esprimere i risultati in millilitri di *acido cloridrico 0,01 M* per 100 ml. Esprimere con due cifre decimali i valori di titolazione inferiori a 1,0 ml e con una cifra decimale i valori di titolazione uguali o superiori a 1,0 ml.

Limiti. I risultati, o la media dei risultati se è stata effettuata più di una titolazione, non sono superiori ai valori indicati nella Tabella 3.2.1.-3.

Tabella 3.2.1.-3. *Valori limite del saggio di resistenza idrolitica di superficie*

Volume di riempimento in millilitri	Massimo volume di HCl 0,01 M per 100 ml di liquido da esaminare (ml)	
	Contenitori in vetro	
	Tipo I e II	Tipo III
Fino ad 1	2,0	20,0
Oltre 1 e fino a 2	1,8	17,6
» 2 » 5	1,3	13,2
» 5 » 10	1,0	10,2
» 10 » 20	0,80	8,1
» 20 » 50	0,60	6,1
» 50 » 100	0,50	4,8
» 100 » 200	0,40	3,8
» 200 » 500	0,30	2,9
Oltre 500	0,20	2,2

SAGGIO B. RESISTENZA IDROLITICA DEL VETRO POLVERIZZATO (SAGGIO SUL VETRO POLVERIZZATO)

Verificare che gli articoli ricevuti siano rispondenti ai criteri di qualità in vigore per una accettabile qualità commerciale.

Il saggio può essere eseguito sulle canne utilizzate per fabbricare contenitori di vetro tubolari o sui contenitori.

Apparecchiatura

- mortaio, pestello (vedi Figura 3.2.1.-2) e martello in acciaio temperato magnetico;
- una serie di 3 setacci a maglie quadrate in acciaio inossidabile, montati su di un telaio dello stesso materiale, composta da:
 - (a) setaccio n. 710;
 - (b) setaccio n. 425;
 - (c) setaccio n. 300;
- un magnete permanente;
- un foglio di metallo (per esempio alluminio o acciaio inossidabile);

- una stufa ad aria calda in grado di mantenere una temperatura di $140\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- una bilancia in grado di pesare fino a 500 g con una precisione di 0,005 g;
- un essiccatore;
- un bagno a ultrasuoni.

Metodo. Lavare i contenitori da saggiare con *acqua R* e asciugarli in stufa ad aria calda. Avvolgere almeno 3 dei contenitori di vetro con carta pulita e romperli per produrre 2 campioni di circa 100 g ognuno in pezzi non superiori a 30 mm di larghezza. Da uno dei due lotti prelevare 30–40 g di frammenti compresi fra 10 mm e 30 mm di larghezza e trasferirli nel mortaio. Inserire il pestello e colpirlo fortemente col martello una sola volta.

Trasferire il contenuto del mortaio nel setaccio a maglie più larghe (a). Ripetere l'operazione fino a che tutti i frammenti siano stati trasferiti nel setaccio. Agitare a mano i setacci per un breve tempo, togliere la porzione rimasta sui setacci (a) e (b) e sottoporla a frattura, ripetendo l'operazione fino a quando sul setaccio (a) rimangono circa 10 g di vetro. Scartare questa porzione e quella che passa attraverso il setaccio (c). Riasssemblare l'insieme dei setacci a mano o meccanicamente e agitare per 5 min. Trasferire su un recipiente per pesata la parte di granuli di vetro che passa attraverso il setaccio (b) e che è trattenuta dal setaccio (c). Ripetere le procedure di triturazione e setacciatura con l'altro lotto di vetro, ottenendo così 2 campioni di granuli, ognuno dei quali dovrà essere superiore a 10 g. Stendere ogni campione su un foglio di carta lucida pulito e rimuovere ogni particella di ferro passando il magnete sopra di essi. Trasferire ciascun campione in un beaker per lavarlo e aggiungere ai granuli 30 ml di *acetone R*. Agitare i granuli servendosi di un attrezzo appropriato, come un'asta di vetro ricoperta di plastica o gomma. Dopo aver agitato i granuli, lasciar decantare e prelevare tanto acetone quanto è possibile. Aggiungere altri 30 ml di *acetone R*, agitare, lasciar decantare e prelevare daccapo l'acetone, poi aggiungere ancora una nuova porzione di *acetone R*.

Riempire la vaschetta dell'apparecchio a ultrasuoni con acqua a temperatura ambiente, poi deporre il beaker nella rastrelliera e immergere fino a che il livello dell'acetone sia all'altezza dell'acqua; applicare gli ultrasuoni per 1 min. Agitare il beaker, lasciar decantare e prelevare tanto acetone quanto è possibile, poi ripetere il trattamento agli ultrasuoni. Se persiste una leggera torbidità, ripetere il trattamento agli ultrasuoni e il lavaggio con acetone fino a completa limpidezza della solu-

zione. Agitare, eliminare l'acetone, successivamente seccare i granuli mettendo prima il beaker su una piastra calda per rimuovere l'eccesso di acetone e poi scaldando a $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 20 min in una stufa. Trasferire i granuli essiccati da ciascun beaker in pesafiltri separati, inserire i tappi e lasciar raffreddare nell'essiccatore. Pesare 10,00 g di granuli essiccati e puliti in 2 beute. Aggiungere 50 ml di *acqua R1* in ciascuna di esse mediante una pipetta (soluzioni da esaminare). Introdurre con una pipetta 50 ml di *acqua R1* in una terza beuta la quale servirà da bianco. Distribuire i granuli uniformemente sulle superfici piane delle beute agitando dolcemente. Chiudere le beute per mezzo di cristallizzatori di vetro neutro o di fogli di alluminio scioccati con *acqua R* o con beaker rovesciati, affinché la superficie interna dei beaker poggi perfettamente sul bordo superiore delle beute. Posizionare le tre beute sulla rastrelliera dell'autoclave contenente l'acqua a temperatura ambiente e assicurarsi che esse siano mantenute sotto il livello dell'acqua della vasca. Portare a termine la procedura di autolavaggio in modo simile a quello descritto nel saggio A, ma mantenendo la temperatura di $121 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo per 30 ± 1 min. Non aprire l'autoclave fino a che non si sia raffreddata a $95\text{ }^{\circ}\text{C}$. Rimuovere i campioni caldi dall'autoclave e raffreddare le beute sotto acqua corrente il più rapidamente possibile, evitando tuttavia di provocare uno shock termico. Aggiungere 0,05 ml di *rosso di metile soluzione R* a ciascuna delle tre beute. Titolare immediatamente la soluzione del bianco con *acido cloridrico 0,02 M*, poi titolare le soluzioni da esaminare fino a far coincidere la colorazione ottenuta con quella della soluzione utilizzata come bianco. Sottrarre il volume di soluzione utilizzato per la titolazione del bianco da quello utilizzato per titolare le soluzioni da saggiare.

NOTA: se è necessario ottenere un punto di fine titolazione preciso, conviene trasferire la soluzione limpida in una beuta distinta da 250 ml. Sciacquare i granuli con tre quantità, ciascuna di 15 ml, di acqua R1 imprimendo alla beuta un movimento circolare e aggiungere le acque di lavaggio alla soluzione principale. Aggiungere 0,05 ml di rosso di metile soluzione R. Titolare e calcolare come descritto sotto. In questo caso aggiungere anche 45 ml di acqua R1 e 0,05 ml di rosso di metile soluzione R alla soluzione del bianco.

Calcolare il valore medio dei risultati in millilitri di *acido cloridrico 0,02 M* per grammo di campione e se richiesto il suo equivalente in alcali estratti, calcolato come microgrammi di sodio ossido per grammo di granuli di vetro.

Contenitori di vetro per uso farmaceutico

1 ml di *acido cloridrico 0,02 M* equivale a 620 µg di sodio ossido.

Ripetere il saggio se il valore più alto e quello più basso osservati differiscono di più del 20 per cento.

Limiti. I contenitori di vetro di Tipo I richiedono non più di 1,0 ml di *acido cloridrico 0,02 M* (che equivalgono a 62 µg di Na₂O per grammo di vetro), i contenitori di vetro di Tipo II e di Tipo III richiedono non più di 8,5 ml di *acido cloridrico 0,02 M* (che equivalgono a 527 µg di Na₂O per grammo di vetro).

SAGGIO C. PER DETERMINARE SE I CONTENITORI SONO STATI SOTTOPOSTI A TRATTAMENTO DELLA SUPERFICIE (SAGGIO DI CORROSIONE)

Quando è necessario determinare se un contenitore è stato sottoposto o no ad un trattamento della superficie, e/o distinguere i contenitori di vetro di Tipo I e Tipo II, in aggiunta al saggio A si usa il saggio C. Alternativamente, si possono applicare i saggi A e B. Il saggio C può essere effettuato sia su contenitori non utilizzati sia su contenitori previamente sottoposti al saggio A.

Bottiglie e flaconcini. I volumi di liquido necessari per il saggio sono indicati nella Tabella 3.2.1.-2.

Lavare due volte i contenitori con *acqua R*. Riempirli completamente con la miscela composta da un volume di *acido fluoridrico R* e 9 volumi di *acido cloridrico R* e lasciarli riposare per 10 min. Svuotarli e lavarli accuratamente 5 volte con *acqua R*. Immediatamente prima del saggio, lavare i contenitori ancora una volta con *acqua R* e sottoporli allo stesso trattamento in autoclave e procedura di titolazione descritte nel saggio A per la resistenza idrolitica di superficie. Se i risultati sono considerevolmente più elevati (da 5 a 10 volte) di quelli ottenuti dalla superficie originale, i campioni sono stati sottoposti al trattamento della superficie.

Fiale

NOTA: le fiale ottenute a partire da tubi di vetro non sono generalmente sottoposte a trattamento della superficie interna perché la loro elevata resistenza chimica dipende dalla composizione chimica del vetro usato come materia prima.

Sottoporre i contenitori allo stesso saggio descritto per i flaconcini e le bottiglie. Se le fiale non hanno subito il trattamento della superficie, i nuovi valori sono leggermente inferiori a quelli ottenuti nei saggi precedenti.

Distinzione fra i contenitori di vetro di Tipo I e di Tipo II

I risultati ottenuti nel saggio C vengono confrontati con quelli del saggio A. L'interpretazione del confronto è spiegata nella Tabella 3.2.1.-4.

Tabella 3.2.1.-4. *Distinzione fra i contenitori di vetro di tipo I e di Tipo II*

Tipo I	Tipo II
I valori sono molto simili a quelli trovati nel Saggio per la resistenza idrolitica di superficie per i contenitori di vetro di Tipo I	I valori sono molto più elevati di quelli trovati nel Saggio per la resistenza idrolitica di superficie e sono simili, ma non superiori, a quelli per i contenitori di vetro di Tipo III

ARSENICO

Il saggio si applica solo ai contenitori in vetro destinati a contenere preparazioni acquose per uso parenterale.

Spettrometria di assorbimento atomico a generazione di idruri. (*Metodo I, 2.2.23*)

Soluzione in esame. Utilizzare l'estratto della soluzione ottenuta a partire dai contenitori di vetro di Tipo I e di Tipo II, dopo essere stati trattati in autoclave a 121 °C per 1 h come descritto nel saggio A di resistenza idrolitica di superficie. Trasferire 10,0 ml di questa soluzione in un pallone tarato da 100 ml. Aggiungere 10 ml di *acido cloridrico R* e 5 ml di una soluzione 200 g/l di *potassio ioduro R*. Riscaldare su bagnomaria a 80 °C per 20 min, lasciar raffreddare e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di arsenico (As 1 ppm) R*. Aggiungere 10 ml di *acido cloridrico R* e 5 ml di una soluzione 200 g/l di *potassio ioduro R*. Riscaldare su bagnomaria a 80 °C per 20 min, lasciar raffreddare e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. L'intervallo di concentrazione delle soluzioni di riferimento è generalmente da 0,005 ppm a 0,015 ppm di As.

Riserva di acido. *Acido cloridrico R.*

Riserva di riduzione. *Sodio tetraidroborato soluzione riducente R.*

Usare un apparecchio per la generazione di idruri per introdurre la soluzione in esame nella cella di uno spettrometro di assorbimento atomico. Stabilizzare e standardizzare le condizioni operative strumentali secondo le istruzioni del fabbricante, ottimizzare la velocità di entrata dei tubi della pompa peristaltica, poi collegare i tubi alla riserva di acido, alla riserva di riduzione e alla soluzione in esame.

Sorgente: una lampada a catodo cavo.

Lunghezza d'onda: 197,3 nm.

Dispositivo di atomizzazione: fiamma aria-acetilene.

Limite: non superiore a 0,1 ppm di As.

TRAMMISSIONE DELLA LUCE PER I CONTENITORI DI VETRO COLORATO

Apparecchiatura. Uno spettrofotometro UV-VIS, dotato di un rivelatore a fotodiode o di un tubo fotomoltiplicatore accoppiato ad una sfera di integrazione.

Preparazione del campione. Rompere il contenitore di vetro o tagliarlo con una sega circolare dotata di una ruota abrasiva ad umido, come ad esempio una ruota diamantata o al carborundum. Scegliere sezioni rappresentative dello spessore della parete ed adattarele per esser montate in uno spettrofotometro. Se il campione è troppo piccolo per coprire l'apertura del porta-campioni, e purchè la sua lunghezza sia maggiore di quella della fenditura ottica dello strumento, si può coprire la parte rimasta scoperta con schermature opache di carta o di nastro. Prima del montaggio, lavare, asciugare e pulire il campione e metterlo in posizione, fissandolo con cera od altro mezzo adatto, evitando di lasciarvi impronte digitali od altri segni.

Procedimento. Porre il campione nello spettrofotometro con il suo asse cilindrico parallelo alla fenditura, in modo che il fascio di luce sia perpendicolare alla superficie della sezione e che le perdite per riflessione siano ridotte al minimo. Misurare la trasmissione, rispetto all'aria, nel campo spettrale fra 290 nm e 450 nm, in modo continuo o ad intervalli di 20 nm.

Limiti. Per i contenitori di vetro colorato destinati a contenere prodotti di impiego non parenterale ed indipendentemente dal tipo e dalla capacità del contenitore stesso, la trasmissione della luce, osservata nel campo spettrale fra 290-450 nm, non supera il 10 per cento.

Per i recipienti di vetro colorati per preparazioni parenterali, la trasmissione non supera i limiti indicati nella Tabella 3.2.1.-5

Tabella 3.2.1.-5. - *Limiti di trasmissione spettrale per contenitori di vetro colorato destinati a preparazioni parenterali.*

Volume nominale (ml)	Percentuale massima di trasmissione della luce ad ogni lunghezza d'onda compresa fra 290 nm e 450 nm	
	Contenitori saldati alla fiamma	Contenitori con chiusure
Fino ad 1	50	25
Oltre 1 e fino a 2	45	20
» 2 » 5	40	15
» 5 » 10	35	13
» 10 » 20	30	12
Oltre 20	25	10

Annesso - saggio della resistenza idrolitica di superficie - determinazione mediante spettrometria di assorbimento atomico di fiamma.

La resistenza idrolitica di superficie dei vetri di Tipo I e II può essere determinata analizzando le soluzioni ottenute dopo il rilascio mediante spettrometria di assorbimento atomico di fiamma. Un certo numero di elementi, presenti nel vetro sotto forma di ossidi e contribuenti alla alcalinità della soluzione, vengono determinati ed utilizzati per esprimere i risultati in equivalente di alcalinità. Il metodo spettrometrico ha il vantaggio di permettere l'uso di un campione di estratto molto piccolo in modo tale da poter essere applicato a singoli piccoli contenitori. Ciò permette di valutare l'uniformità dei contenitori di un dato lotto quando tale indagine è importante. I risultati di questa determinazione non sono equivalenti a quelli ottenuti mediante titrimetria; i due metodi non possono essere considerati intercambiabili. Una correlazione tra i due metodi dipende dal tipo di vetro e dalle dimensioni e forma del contenitore.

Il metodo titrimetrico è il metodo di riferimento della Farmacopea; il metodo spettrofotometrico può essere utilizzato nei casi giustificati ed autorizzati.

Un metodo appropriato per questo tipo di analisi è descritto di seguito.

La determinazione si effettua su contenitori non ancora usati. Il numero di contenitori da esaminare è indicato nella Tabella 3.2.1. 6.

Contenitori di vetro per uso farmaceutico

Tabella 3.2.1. 6. Numero di contenitori da esaminare per il metodo spettrometrico

Volume di riempimento (ml)	Volume di contenitori da misurare separatamente	Contenitori aggiuntivi per misure preliminari
Fino a 2	20	2
Oltre 2 e fino a 5	15	2
Oltre 5 e fino a 30	10	2
Oltre 30 e fino a 100	5	1
Oltre 100	3	1

Le istruzioni concernenti la determinazione del volume di riempimento, la pulitura dei contenitori, il riempimento ed il riscaldamento sono riportate sopra nelle voci “Resistenza idrolitica” e “Saggio A. Resistenza idrolitica della superficie interna dei contenitori di vetro”.

SOLUZIONI

Soluzione tampone spettrochimica. Disciogliere 80 g di cesio cloruro R in circa 300 ml di acqua RI, aggiungere 10 ml di acido cloridrico 6M R e trasferire la soluzione in un pallone tarato da 1000 ml. Portare a volume con acqua RI e mescolare.

Soluzioni madri:

- sodio ossido, $c(\text{Na}_2\text{O}) = 1 \text{ mg/ml}$,
- potassio ossido, $c(\text{K}_2\text{O}) = 1 \text{ mg/ml}$,
- calcio ossido, $c(\text{CaO}) = 1 \text{ mg/ml}$.

Possono essere egualmente utilizzate soluzioni madri commerciali.

Soluzioni standard. Preparare soluzioni standard diluendo le soluzioni madri con acqua RI per ottenere le concentrazioni adeguate per stabilire le soluzioni di riferimento in maniera appropriata, per esempio con concentrazioni di 20 $\mu\text{g/ml}$ di sodio ossido, potassio ossido e calcio ossido rispettivamente. Possono egualmente essere utilizzate soluzioni standard commerciali.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento per stabilire la curva di calibrazione (serie di soluzioni di calibrazione) diluendo soluzioni standard aventi concentrazioni appropriate con acqua RI in modo da comprendere i normali intervalli di lavoro degli elementi specifici tenendo anche conto dello strumento usato per la misura. Intervalli di concentrazione tipici per le soluzioni di riferimento sono:

- per la determinazione mediante spettrometria di emissione atomica del sodio ossido e potassio ossido: fino a 10 $\mu\text{g/ml}$,
- per la determinazione mediante spettrometria di assorbimento atomico del sodio ossido e potassio ossido: fino a 3 $\mu\text{g/ml}$,
- per la determinazione mediante spettrometria di assorbimento atomico del calcio ossido: fino a 7 $\mu\text{g/ml}$.

Usare soluzioni di riferimento contenenti il 5 per cento V/V di soluzione tampone spettrochimica.

METODO

Effettuare misure preliminari delle concentrazioni di potassio ossido e calcio ossido in una delle soluzioni di estrazione. Se, per un tipo di contenitore, la concentrazione di potassio ossido è inferiore a 0,2 $\mu\text{g/ml}$ e se la concentrazione del calcio ossido è inferiore a 0,1 $\mu\text{g/ml}$, le restanti soluzioni d'estrazione di questo tipo di contenitore non hanno bisogno di essere analizzate per questi ioni. Aspirare la soluzione d'estrazione da ogni campione direttamente nella fiamma dello spettrometro di assorbimento atomico o di emissione atomica e determinare le concentrazioni approssimate di sodio ossido (e, se presenti, di potassio ossido e calcio ossido) facendo riferimento alle curve di calibrazione ottenute a partire dalle soluzioni di riferimento di concentrazione appropriata.

DETERMINAZIONE FINALE

Se non è necessaria una diluizione, aggiungere a ciascun contenitore un volume di soluzione tampone spettrochimica equivalente al 5 per cento del volume di riempimento, mescolare bene e determinare il contenuto di sodio ossido, calcio ossido e potassio ossido, se presenti, facendo riferimento alle curve di calibrazione. Per la determinazione della concentrazione di calcio ossido mediante spettrometria di assorbimento atomico, utilizzare una fiamma protossido d'azoto/acetilene.

Se è necessaria una diluizione, determinare il contenuto di sodio ossido, calcio ossido e potassio ossido, se presenti, seguendo le procedure sopramenzionate. Le soluzioni di misura devono contenere il 5 per cento V/V della soluzione tampone spettrochimica. I valori di concentrazione minori di 1,0 $\mu\text{g/ml}$ vengono espressi con

2 cifre decimali; i valori maggiori di o uguali a 1,0 µg/ml con 1 cifra decimale. Nei risultati, tener conto dell'eventuale aggiunta di soluzione tampone o dell'eventuale diluizione.

CALCOLO

Calcolare il valore medio della concentrazione di ciascuno dei diversi ossidi trovati in ognuno dei campioni analizzati in microgrammi di ossido per millilitro di soluzione d'estrazione e calcolare la somma di ciascun ossido, espressa in microgrammi di sodio ossido per millilitro di soluzione d'estrazione utilizzando i seguenti fattori di conversione di massa:

- 1 µg di potassio ossido corrisponde a 0,658 µg di sodio ossido,
- 1 µg di calcio ossido corrisponde a 1,105 µg di sodio ossido.

Limiti. Per ciascun contenitore sottoposto al saggio il risultato ottenuto non è superiore al valore indicato in Tabella 3.2.1.-7.

Tabella 3.2.1.-7. - Valori limite della resistenza idrolitica di superficie determinata mediante spettrometria d'assorbimento atomico di fiamma

Volume di riempimento in millilitri	Valori massimi per la concentrazione di ossidi, espressi come sodio ossido (µg/ml)
	Contenitori in vetro Tipo I e II
Fino ad 1	5,00
Oltre 1 e fino a 2	4,50
Oltre 2 e fino a 5	3,20
Oltre 5 e fino a 10	2,50
Oltre 10 e fino a 20	2,00
Oltre 20 e fino a 50	1,50
Oltre 50 e fino a 100	1,20
Oltre 100 e fino a 200	1,00
Oltre 200 e fino a 500	0,75
Oltre 500	0,50

3.2.2. CONTENITORI E CHIUSURE IN PLASTICA PER USO FARMACEUTICO

Un contenitore in materiale plastico per uso farmaceutico è un oggetto in plastica che contiene o è progettato per contenere un prodotto farmaceutico con il quale è, o può essere, a contatto diretto. La chiusura è una parte del contenitore.

I materiali utilizzati per contenitori e chiusure per uso farmaceutico sono costituiti da polimeri nei quali possono essere incorporati degli additivi; questi materiali non comprendono, nella loro composizione, sostanze che possono essere estratte dai contenuti in quantità tali da alterare l'efficacia o la stabilità del prodotto o da presentare rischio di tossicità.

I polimeri più comunemente usati sono: polietilene (con o senza additivi), polipropilene, polivinilcloruro, polietilentereftalato e copolimeri etilene-vinilacetato.

La natura e la quantità degli additivi sono determinate dal tipo di polimero, dal procedimento utilizzato per trasformare la plastica in contenitore e dall'uso al quale il contenitore stesso è destinato. Gli additivi possono essere antiossidanti, stabilizzanti, plastificanti, lubrificanti, coloranti e modificatori di resistenza all'urto. Agenti antistatici e di sformatura possono essere utilizzati solo per contenitori per preparazioni per uso orale o per uso esterno, per i quali sono permessi. Gli additivi che si possono usare sono indicati nella specifica tipo per ogni materiale descritto in Farmacopea. Possono essere utilizzati altri additivi purché siano approvati di volta in volta dall'autorità competente responsabile dell'autorizzazione alla vendita della preparazione.

Per la scelta di un adatto contenitore in plastica, è necessario conoscere la formula completa di produzione della plastica, inclusi tutti i materiali aggiunti durante la fabbricazione del contenitore, in modo da poter valutare i rischi potenziali. Il contenitore in plastica scelto per una particolare preparazione dovrebbe essere tale che:

- i componenti della preparazione, a contatto con il materiale plastico, non vengano adsorbiti in modo apprezzabile sulla sua superficie e non migrino all'interno della plastica o attraverso la stessa in modo significativo,
- il materiale plastico non ceda sostanze in quantità sufficiente ad influenzare la stabilità della preparazione o a presentare rischio di tossicità.

Utilizzando il/i materiali scelti che soddisfano a questi criteri, si preparano un certo numero di campioni tipo identici del contenitore con un procedimento ben defi-

nito e si sottopongono a saggi pratici in condizioni che riproducono quelle dell'impiego al quale sono destinati inclusa, se è il caso, la sterilizzazione. Per confermare la compatibilità fra contenitori e contenuti e per garantire che non si abbiano variazioni dannose per la qualità della preparazione, si effettuano diversi saggi quali la verifica dell'assenza di modificazioni delle caratteristiche fisiche, la valutazione delle possibili perdite o incrementi dovuti a permeazione, il rilevamento di variazioni di pH, la valutazione di modificazioni causate dalla luce, saggi chimici e, se del caso, saggi biologici.

Il metodo di produzione è tale da assicurare la riproducibilità per la successiva fabbricazione in grande quantità e si scelgono condizioni di lavorazione che escludano la possibilità di contaminazione con altri materiali plastici o loro componenti. Il produttore deve assicurare che i contenitori fabbricati in produzione siano simili sotto tutti i punti di vista ai campioni tipo.

Perché i risultati dei saggi su campioni tipo rimangano validi, è importante che:

- non vi siano variazioni nella composizione del materiale così come definita per i campioni tipo;
- non vi siano variazioni nel metodo di produzione come così definito per i campioni tipo, specialmente riguardo alle temperature alle quali il materiale plastico è sottoposto durante la conversione o durante procedimenti successivi come la sterilizzazione;
- non venga utilizzato materiale di scarto.

Dopo opportuna validazione, può essere consentito il riciclaggio di materiale in eccesso di natura e proporzioni ben definite.

I materiali descritti nella Farmacopea sono riconosciuti adatti per gli scopi specifici indicati, come sopra definito, purché soddisfino a prove di compatibilità per ciascuna differente combinazione contenitore contenuto.

3.2.2.1. CONTENITORI IN PLASTICA PER SOLUZIONI ACQUOSE PER INFUSIONE

DEFINIZIONE

I contenitori in plastica per soluzioni acquose per infusione sono fabbricati utilizzando uno o più polimeri, se necessario con additivi. I contenitori descritti in questa sezione non sono necessariamente adatti per emulsioni. I polimeri più comunemente utilizzati sono polietilene,

polipropilene e polivinile cloruro. Le specificazioni qui riportate devono essere lette in accordo con la sezione 3.2.2. *Contenitori e chiusure in plastica per uso farmaceutico.*

I contenitori possono essere sacche o bottiglie. Hanno un sito adatto per l'attacco di un apparato tubolare per l'infusione disegnato in modo da garantire un collegamento sicuro. Possono avere un sito che permetta di fare una iniezione al momento dell'uso. Generalmente hanno un dispositivo che consente di sospenderli e che dovrà sopportare la tensione che si verifica al momento dell'uso. I contenitori devono resistere alle condizioni di sterilizzazione alle quali saranno sottoposti. La forma del contenitore e il metodo di sterilizzazione scelto sono tali che tutte le parti dei contenitori che possono venire a contatto con la soluzione siano sterilizzate. I contenitori, dopo la chiusura, sono impermeabili ai microrganismi. I contenitori sono tali che, dopo il riempimento, resistono al danno derivato da un congelamento accidentale che potrebbe verificarsi durante il trasporto della preparazione finale. Se non diversamente giustificato e autorizzato, i contenitori sono e rimangono sufficientemente trasparenti da permettere in ogni momento di esaminare l'aspetto dei contenuti.

I contenitori vuoti non presentano difetti che possono portare a rotture e il contenitore riempito e chiuso non mostra alcuna perdita.

Per una conveniente conservazione di certe preparazioni, il contenitore deve essere racchiuso in una busta di protezione. In questo caso, la valutazione preliminare delle condizioni di conservazione deve essere effettuata utilizzando il contenitore chiuso nella busta.

SAGGI

Soluzione S. *Utilizzare la soluzione S entro 4 h dalla preparazione.* Riempire un contenitore alla sua capacità nominale con *acqua R* e chiuderlo, se possibile nelle condizioni usuali di chiusura, altrimenti utilizzando un foglio di alluminio puro. Scaldare in autoclave in modo da raggiungere in 20-30 min una temperatura di 121 ± 2 °C e mantenere a questa temperatura per 30 min. Se il riscaldamento a 121 °C provoca deterioramento del contenitore, scaldare a 100 °C per 2 h.

Bianco. Preparare un bianco riscaldando *acqua R* in una beuta di vetro borosilicato, chiusa con un foglio di alluminio puro, alla temperatura e per il tempo utilizzati per la preparazione della soluzione S.

Aspetto della soluzione S. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolore (Metodo II, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. Ad un volume di soluzione S corrispondente al 4 per cento della capacità nominale del contenitore aggiungere 0,1 ml di *fenolftaleina soluzione R*. La soluzione è incolore. Aggiungere 0,4 ml di *sodio idrossido 0,01 M*. La soluzione è rosa. Aggiungere 0,8 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e 0,1 ml di *rosso metile soluzione R*. La soluzione è rosso-arancio o rossa.

Assorbanza (2.2.25). Misurare l'assorbanza della soluzione S da 230 nm a 360 nm, utilizzando il bianco (vedi soluzione S) come liquido di compensazione. A queste lunghezze d'onda, l'assorbanza non è superiore a 0,20.

Sostanze riducenti. A 20,0 ml di soluzione S aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Bollire per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M* utilizzando 0,25 ml di *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una titolazione utilizzando 20,0 ml del bianco. La differenza fra i volumi usati nelle due titolazioni non è superiore a 1,5 ml.

Trasparenza. Riempire un contenitore utilizzato in precedenza per la preparazione della soluzione S con un volume, uguale alla capacità nominale, della sospensione opalescente primaria (2.2.1) diluita 1:200 per un contenitore di polietilene o di polipropilene e 1:400 per gli altri contenitori. La torbidità della sospensione è percettibile quando si guarda attraverso le pareti del contenitore e si confronta con un contenitore simile riempito con *acqua R*.

ETICHETTE

L'etichetta che accompagna un lotto di contenitori vuoti comprende l'indicazione di:

- nome e indirizzo del fabbricante,
- numero del lotto che consente di conoscere le vicende del contenitore e del materiale plastico di cui è costituito.

3.2.3. CONTENITORI DI PLASTICA STERILI PER SANGUE UMANO E SUE FRAZIONI

I contenitori di plastica per la raccolta, la conservazione, il trattamento e la somministrazione di sangue e sue frazioni sono costituiti da uno o più polimeri, se necessario, con additivi. La composizione e le condi-

zioni di fabbricazione dei contenitori sono fissate dall'autorità competente secondo la pertinente legislazione nazionale e gli accordi internazionali.

Quando la composizione dei materiali delle differenti parti dei contenitori corrisponde alle relative specifiche, la loro qualità viene controllata con i metodi indicati in quelle specifiche (Vedere il capitolo 3.1. *Materiali usati per la fabbricazione di contenitori e le sue sezioni*).

Materiali diversi da quelli descritti nella Farmacopea possono essere usati, purché la loro composizione sia autorizzata dalla competente autorità e purché i contenitori fabbricati con quei materiali soddisfino alle specifiche prescritte per *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni*.

In condizioni di uso normale, i materiali non rilasciano monomeri, o altre sostanze, in quantità tali da poter essere nocivi, né portano a modificazioni anomale del sangue.

I contenitori possono contenere soluzioni anticoagulanti, secondo l'uso previsto, e sono forniti sterili.

Ciascun contenitore è provvisto di raccordi adatti all'uso previsto. Il contenitore può costituire una singola unità oppure il contenitore di raccolta può essere connesso, mediante uno o più tubi, ad uno o più contenitori secondari per permettere la separazione dei componenti del sangue entro un sistema chiuso.

I raccordi hanno forma e dimensione appropriate per consentire un adeguato collegamento del contenitore con l'apparato di trasfusione. Le coperture di protezione sull'ago per il prelievo e sui raccordi devono essere tali da assicurare il mantenimento della sterilità. Devono essere facili da rimuovere ma devono essere inviolabili.

La capacità dei contenitori è in rapporto alla capacità nominale fissata dall'autorità nazionale e al volume necessario di soluzione anticoagulante. La capacità nominale è il volume di sangue da raccogliere nel contenitore. I contenitori sono di forma tale che una volta riempiti possano essere centrifugati.

I contenitori sono muniti di un sistema adatto a sospenderli o fissarli, che non ostacola la raccolta, la conservazione, il trattamento o la somministrazione del sangue.

I contenitori sono racchiusi in buste di protezione sigillate.

CARATTERI

Il contenitore è sufficientemente trasparente da consentire un'opportuna ispezione visiva dei contenuti prima e dopo il prelievo del sangue e sufficientemente elastici da offrire una resistenza minima durante il riempimento e lo svuotamento nelle normali condizioni d'uso. Il contenitore contiene non più di 5 ml di aria.

SAGGI

Soluzione S₁. Riempire il contenitore con 100 ml di una soluzione sterile, apirogena, (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Chiudere il contenitore e scaldarlo in autoclave così che il contenuto sia mantenuto a 110 °C per 30 min.

Se il contenitore in esame contiene una soluzione anti-coagulante, vuotarlo e poi sciacquare con 250 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* a 20 °C ± 1 °C e scartare i lavaggi.

Soluzione S₂. Introdurre nel contenitore un volume di *acqua per preparazioni iniettabili R* corrispondente al volume richiesto di soluzione anticoagulante. Chiudere il contenitore e scaldarlo in autoclave così che il contenuto rimanga a 110 °C per 30 min. Dopo raffreddamento, aggiungere *acqua per preparazioni iniettabili R* fino a riempire il contenitore alla sua capacità nominale.

Se il contenitore in esame contiene una soluzione anti-coagulante, prima vuotare e poi sciacquare come indicato sopra.

Resistenza alla centrifugazione. Introdurre nel contenitore un volume di *acqua R*, acidificata per aggiunta di 1 ml di *acido cloridrico diluito R*, sufficiente a riempirlo alla sua capacità nominale. Avvolgere il contenitore con carta assorbente impregnata con *blu bromofenolo soluzione R1* (diluata 1:5) oppure con altro indicatore adatto e poi essiccata. Centrifugare a 5000 giri per 10 min. Non si deve avere alcuna fuga rivelata dalla carta indicatrice né alcuna distorsione permanente.

Resistenza alla trazione. Introdurre nel contenitore un volume di *acqua R*, acidificata per aggiunta di 1 ml di *acido cloridrico diluito R*, sufficiente a riempirlo alla sua capacità nominale. Sospendere il contenitore, per mezzo dell'apposito dispositivo, dalla parte opposta rispetto al tubo per il prelievo, e applicare lungo l'asse di questo tubo una forza istantanea di 20 N (2,05 kg forza). Mantenere la trazione per 5 s. Ripetere il saggio applicando la forza a ciascuno dei raccordi per il riempimento e lo svuotamento. Non si devono verificare rotture o deterioramenti.

Perdite. Porre il contenitore, che è stato sottoposto al saggio di resistenza alla trazione, fra due lastre ricoperte di carta assorbente impregnata con *blu bromofenolo soluzione R1* (diluata 1:5) o altro indicatore adatto e poi essiccata. Progressivamente applicare una forza alle lastre per comprimere il contenitore così che la sua pressione interna (cioè la differenza fra la pressione applicata e la pressione atmosferica) raggiunga i 67 kPa entro 1 min. Mantenere la pressione per 10 min. Nessun segno di perdita è rivelabile sulla carta con l'indicatore o in corrispondenza di altri punti di collegamento (saldature, giunti, ecc.).

Permeabilità al vapore. Per un contenitore che contenga una soluzione anticoagulante, riempirlo con un volume di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* uguale al volume di sangue che dovrebbe contenere.

Per un contenitore vuoto, riempirlo con la stessa miscela di soluzione anticoagulante e sodio cloruro soluzione. Chiudere il contenitore, pesarlo e conservarlo per 21 giorni a 5 ± 1 °C in un'atmosfera con umidità relativa di 50 ± 5 per cento. Dopo questo tempo, la perdita in massa non supera l'uno per cento.

Svuotamento sotto pressione. Riempire il contenitore con un volume di *acqua R*, a 5 ± 1 °C, uguale alla capacità nominale. Connettere una tubolatura di trasfusione senza ago per endovena a uno dei raccordi. Comprimerlo il contenitore in modo da mantenere, durante lo svuotamento, una pressione interna (cioè la differenza fra la pressione applicata e la pressione atmosferica) di 40 kPa. Il contenitore si svuota in meno di 2 min.

Velocità di riempimento. Collegare il contenitore, attraverso il tubo di prelievo munito di ago, con un serbatoio che contiene una soluzione adatta con una viscosità uguale a quella del sangue, come una soluzione (335 g/l) di *saccarosio R* a 37 °C. Mantenere la pressione interna del serbatoio (cioè la differenza fra la pressione applicata e la pressione atmosferica) a 9,3 kPa con la base del serbatoio e la parte superiore del contenitore allo stesso livello. Il volume di liquido che fluisce nel contenitore in 8 min non è inferiore alla sua capacità nominale.

Resistenza a variazioni di temperatura. Porre il contenitore in un ambiente adatto che abbia una temperatura iniziale da 20 °C a 23 °C. Raffreddarlo rapidamente in un congelatore a -80 °C e mantenerlo a questa temperatura per 24 h. Innalzare la temperatura a 50 °C e mantenerla per 12 h. Lasciar raffreddare a temperatura ambiente. Il contenitore soddisfa ai saggi di resistenza

alla centrifugazione, resistenza alla trazione, perdite, permeabilità al vapore, svuotamento sotto pressione e velocità di riempimento prima descritti.

Trasparenza. Riempire il contenitore vuoto con un volume, uguale alla sua capacità nominale, di sospensione primaria opalescente (2.2.1) diluita in modo da avere un'assorbanza (2.2.25) a 640 nm da 0,37 a 0,43 (fattore di diluizione circa 1:16). La torbidità della sospensione deve essere percepibile quando viene osservata attraverso la sacca, in confronto con un contenitore simile riempito con *acqua R*.

Materie estraibili. I saggi vengono effettuati con modalità studiate per simulare, per quanto possibile, le condizioni di contatto, fra il contenitore e il contenuto, che si verificano nelle condizioni di impiego.

Le condizioni di contatto e i saggi da effettuare sugli eluati sono stabiliti, in base alla natura dei materiali costituenti, nelle prescrizioni particolari per ciascun tipo di contenitore.

Effetti emolitici in sistemi tamponati

Soluzione tampone madre. Sciogliere 90,0 g di *sodio cloruro R*, 34,6 g di *sodio fosfato dibasico R* e 2,43 g di *sodio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Soluzione tampone A₀. A 30,0 ml di soluzione tampone madre aggiungere 10,0 ml di *acqua R*.

Soluzione tampone B₀. A 30,0 ml di soluzione tampone madre aggiungere 20,0 ml di *acqua R*.

Soluzione tampone C₀. A 15,0 ml di soluzione tampone madre aggiungere 85,0 ml di *acqua R*.

Introdurre 1,4 ml di soluzione S₂ in ciascuno di tre tubi da centrifuga. Al tubo I aggiungere 0,1 ml di soluzione tampone A₀, al tubo II aggiungere 0,1 ml di soluzione tampone B₀, al tubo III aggiungere 0,1 ml di soluzione tampone C₀. A ciascun tubo aggiungere 0,02 ml di sangue umano eparinizzato fresco, mescolare bene e scaldare a b.m. a 30 ± 1 °C per 40 min. Usare sangue prelevato meno di tre ore prima oppure sangue conservato in una soluzione anticoagulante citrato-fosfato-gluco-*sio* (CPD) prelevato da meno di 24 h.

Preparare tre soluzioni contenenti, rispettivamente:

3,0 ml di soluzione tampone A₀ e 12,0 ml di *acqua R* (soluzione A₁),

4,0 ml di soluzione tampone B₀ e 11,0 ml di *acqua R* (soluzione B₁),

4,75 ml di soluzione tampone C₀ e 10,25 ml di *acqua R* (soluzione C₁).

Ai tubi I, II e III aggiungere, rispettivamente, 1,5 ml di soluzione A₁, 1,5 ml di soluzione B₁ e 1,5 ml di soluzione C₁. Contemporaneamente e nello stesso modo preparare altri tre tubi, sostituendo la soluzione S₂ con *acqua R*. Centrifugare contemporaneamente i tubi in esame e quelli di controllo, esattamente a 2500 giri nella stessa centrifuga orizzontale per 5 min. Dopo la centrifugazione, misurare le assorbanze dei liquidi (2.2.25) a 540 nm usando la soluzione tampone madre come bianco e calcolare il valore emolitico in percentuale dall'espressione:

$$\frac{A_{\text{exp}}}{A_{100}} \times 100$$

A₁₀₀ = assorbanza del tubo III,

A_{exp} = assorbanza del tubo I o II o dei corrispondenti tubi di controllo.

La soluzione nel tubo I dà un valore emolitico non superiore al 10 per cento e il valore emolitico della soluzione nel tubo II non differisce di più del 10 per cento da quello del tubo di controllo corrispondente.

Sterilità (2.6.1). I contenitori soddisfano al saggio di sterilità. Introdurre asetticamente nel contenitore 100 ml di una soluzione sterile (9 g/l) di sodio cloruro e agitare il contenitore per garantire che le superfici interne siano state completamente bagnate. Filtrare il contenuto del contenitore attraverso un filtro a membrana e porre la membrana nell'appropriato terreno di coltura, come prescritto nel saggio di sterilità.

Pirogeni (2.6.8). La soluzione S₁ soddisfa al saggio per i pirogeni. Iniettare 10 ml della soluzione per chilogrammo di massa del coniglio.

Tossicità anormale (2.6.9). La soluzione S₁ soddisfa al saggio per la tossicità anormale. Iniettare 0,5 ml della soluzione in ciascun topo.

CONFEZIONAMENTO

I contenitori sono avvolti in buste di protezione.

Al momento della rimozione dalla busta di protezione il contenitore non deve presentare perdite né alcuno sviluppo di microrganismi. L'imballaggio protettivo è sufficientemente robusto da resistere ad una normale manipolazione.

La busta protettiva è sigillata in modo tale che non possa essere aperta e nuovamente chiusa senza che rimangano tracce visibili che la sigillatura è stata rotta.

ETICHETTE

L'etichetta è conforme alla relativa legislazione nazionale e agli accordi internazionali. Riporta:

- il nome e l'indirizzo del produttore,
- un numero di lotto che consenta di risalire alle fasi di produzione del contenitore e del materiale plastico di cui è composto.

Una parte dell'etichetta è riservata per:

- l'indicazione del gruppo sanguigno, il numero di riferimento e tutte le altre indicazioni richieste dalla legislazione nazionale o da accordi internazionali e uno spazio vuoto per inserire etichette supplementari.

L'etichetta della busta di protezione o l'etichetta sul contenitore, visibile attraverso la busta, indica:

- la data di scadenza,
- che, una volta tolto dall'imballaggio, il contenitore deve essere utilizzato entro 10 giorni.

L'inchiostro o altre sostanze utilizzate per stampare le etichette o per scrivere, non devono diffondere nel materiale plastico del contenitore e devono rimanere leggibili fino al momento dell'uso.

3.2.4. CONTENITORI VUOTI STERILI IN MATERIALE A BASE DI POLIVINILE CLORURO PLASTIFICATO PER SANGUE UMANO E SUE FRAZIONI.

A meno che sia diversamente autorizzato, come definito in *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni* (3.2.3), la natura e la composizione del materiale di cui i contenitori sono costituiti soddisfano ai requisiti per *Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per sangue umano e sue frazioni e contenitori in plastica per soluzioni acquose per infusione endovenosa* (3.1.1).

SAGGI

Soddisfano ai saggi prescritti per *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni* (3.2.3) e ai seguenti saggi per rilevare sostanze estraibili.

Soluzione di riferimento. Riscaldare *acqua per preparazioni iniettabili R* in un matraccio di vetro borosilicato in autoclave a 110 °C per 30 min.

Sostanze ossidabili. Immediatamente dopo la preparazione della soluzione S₂ (vedi 3.2.3), trasferirne in una beuta di vetro borosilicato una quantità corrispondente

all'8 per cento della capacità nominale del contenitore. Contemporaneamente preparare un bianco utilizzando un uguale volume di soluzione di riferimento, preparata di recente, in un'altra beuta di vetro borosilicato. Aggiungere a ciascuna soluzione 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M* e 1 ml di *acido solforico diluito R*. Lasciar riposare, al riparo dalla luce, per 15 min. A ciascuna soluzione aggiungere 0,1 g di *potassio ioduro R*, lasciar riposare al riparo dalla luce per 5 min e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M* utilizzando 0,25 ml di *amido soluzione R* come indicatore. La differenza fra le due titolazioni non è superiore a 2,0 ml.

Acidità o alcalinità. Ad un volume di soluzione S₂ corrispondente al 4 per cento della capacità nominale del contenitore, aggiungere 0,1 ml di *fenolftaleina soluzione R*. La soluzione rimane incolore. Aggiungere 0,4 ml di *sodio idrossido 0,01 M*. La soluzione è rosa. Aggiungere 0,8 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e 0,1 ml di *rosso metile soluzione R*. La soluzione è rosso arancio o rossa.

Cloruri (2.4.4). 15 ml di soluzione S₂ soddisfano al saggio limite per i cloruri (0,4 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando una miscela di 1,2 ml della *soluzione standard di cloruro (Cl 5 ppm) R* e 13,8 ml di *acqua R*.

Ammonio (2.4.1). Diluire 5 ml di soluzione S₂ a 14 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per l'ammonio (2 ppm).

Residuo all'evaporazione. Evaporare a secco 100 ml di soluzione S₂ in un recipiente di vetro borosilicato di appropriata capacità, preventivamente riscaldato a 105 °C. Evaporare a secco, nelle stesse condizioni, 100 ml della soluzione di riferimento (saggio in bianco) ed essiccare a massa costante a 100-105 °C. Il residuo della soluzione S₂ non pesa più di 3 mg, tenuto conto del saggio in bianco.

Assorbanza (2.2.25). Misurare l'assorbanza della soluzione S₂ da 230 nm a 360 nm, utilizzando come bianco la soluzione di riferimento. Alle lunghezze d'onda comprese fra 230 nm e 250 nm l'assorbanza non è superiore a 0,30; alle lunghezze d'onda da 251 nm a 360 nm l'assorbanza non è superiore a 0,10.

Di(2-etilesil) ftalato estraibile. Usare come solvente di estrazione *alcool R* diluito con *acqua R* così da avere una densità relativa (2.2.5) da 0,9389 a 0,9395 misurata con un picnometro.

Soluzione madre. Disciogliere 0,100 g di *di(2-etilesil) ftalato R* nel solvente di estrazione e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzioni di riferimento

- (a) Diluire 20,0 ml di soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione.
- (b) Diluire 10,0 ml di soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione.
- (c) Diluire 5,0 ml di soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione.
- (d) Diluire 2,0 ml di soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione.
- (e) Diluire 1,0 ml di soluzione madre a 100,0 ml con il solvente di estrazione.

Misurare le assorbanze (2.2.25) delle soluzioni di riferimento al massimo di assorbimento a 272 nm utilizzando come bianco il solvente di estrazione e tracciare una curva dell'assorbanza rispetto alla concentrazione di di(2-etilesil) ftalato.

Procedimento di estrazione. Attraverso il tubo di efflusso, l'ago o l'adattatore, riempire il contenitore vuoto con un volume, uguale alla metà del volume nominale, di solvente di estrazione, in precedenza riscaldato a 37 °C in una beuta ben chiusa. Far uscire completamente l'aria dal contenitore e chiudere il tubo di efflusso. Immergere il contenitore pieno, in posizione orizzontale, in un b.m. mantenuto a 37 ± 1 °C per 60 ± 1 min senza agitare. Rimuovere il contenitore dal b.m., capovolgerlo delicatamente 10 volte e trasferire il contenuto in una beuta di vetro. Misurare immediatamente l'assorbanza al massimo a 272 nm, utilizzando come bianco il solvente di estrazione.

Determinare la concentrazione di di(2-etilesil) ftalato in milligrammi per 100 ml di estratto dalla curva di taratura. La concentrazione non deve superare i:

- 10 mg per 100 ml per contenitori di volume nominale superiore a 300 ml ma inferiore a 500 ml;
- 13 mg per 100 ml per contenitori di volume nominale superiore a 150 ml ma inferiore a 300 ml;
- 14 mg per 100 ml per contenitori di volume nominale massimo di 150 ml.

CONFEZIONAMENTO

Vedere *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni* (3.2.3).

ETICHETTA

Vedere *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni* (3.2.3).

3.2.5. CONTENITORI STERILI IN MATERIALE A BASE DI POLIVINILE CLORURO PLASTIFICATO PER SANGUE UMANO CONTENENTI UNA SOLUZIONE ANTICOAGULANTE

I contenitori sterili in plastica contenenti una soluzione anticoagulante conforme alla monografia *Soluzioni anticoagulanti e conservanti per sangue umano* (0209) vengono usati per il prelievo, la conservazione e la somministrazione del sangue. Prima del riempimento essi devono essere conformi con la descrizione e i caratteri riportati in *Contenitori vuoti sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per sangue umano e sue frazioni* (3.2.4).

Se non è autorizzato diversamente, come riportato in *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni* (3.2.3), la natura e la composizione del materiale di cui sono costituiti i contenitori soddisfano a quanto prescritto per *Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per sangue umano e sue frazioni e contenitori per soluzioni acquose per infusione endovenosa* (3.1.1).

SAGGI

Soddisfano ai saggi prescritti per *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni* (3.2.3) e ai saggi che seguono, per misurare il volume di soluzione anticoagulante e per rilevare le sostanze estraibili.

Volume di soluzione anticoagulante. Vuotare il contenitore raccogliendo la soluzione anticoagulante in un cilindro graduato. Il volume non differisce di più del ± 10 per cento da quello indicato.

Esame spettrofotometrico (2.2.25). Misurare l'assorbanza della soluzione anticoagulante, tolta dal contenitore, fra 250 nm e 350 nm utilizzando come bianco una soluzione anticoagulante della stessa composizione, che non sia stata a contatto con un materiale plastico. L'assorbanza al massimo a 280 nm non è superiore a 0,5.

Di(2-etilesil) ftalato estraibile. Rimuovere con cura la soluzione anticoagulante per mezzo del tubo flessibile per il prelievo. Utilizzando un imbuto collegato al tubo,

riempire completamente il contenitore con *acqua R*, lasciare a contatto per 1 min premendo leggermente il contenitore, quindi vuotarlo completamente. Ripetere il lavaggio.

Il contenitore, così vuotato e sciacquato, soddisfa al saggio per il di(2-etilesil) ftalato estraibile riportato in *Contenitori vuoti sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per sangue umano e sue frazioni* (3.2.4).

CONFEZIONAMENTO ED ETICHETTE

Vedere *Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni* (3.2.3).

3.2.6. APPARATI TUBOLARI PER LA TRASFUSIONE DI SANGUE E SUE FRAZIONI

Gli apparati tubolari per la trasfusione del sangue e delle sue frazioni (deflussori) sono costituiti principalmente da un tubo di plastica cui sono fissate le parti necessarie per permettere all'insieme di essere utilizzato per la trasfusione in modo appropriato. Il sistema comprende un dispositivo per perforare le chiusure, un filtro da sangue, una camera di gocciolamento, un regolatore di flusso, un giunto Luer e, generalmente, un sito che consente di fare una iniezione al momento dell'uso. Quando gli apparati tubolari devono essere utilizzati con contenitori che richiedono un filtro per l'aria, questo può essere incorporato nel dispositivo per perforare le chiusure oppure si può utilizzare una presa d'aria separata. La camera che racchiude il filtro da sangue, la camera di gocciolamento e il tubo principale sono trasparenti. I materiali scelti e il disegno del sistema sono tali da garantire l'assenza di effetti emolitici. Gli apparati tubolari soddisfano alle norme correnti per quanto riguarda dimensioni e funzionamento.

Tutte le parti che possono venire a contatto con il sangue e sue frazioni sono sterili e apirogene. Ogni apparato è confezionato in un imballaggio individuale che mantiene la sterilità del contenuto. Gli apparati tubolari non devono essere sterilizzati di nuovo o riutilizzati.

Gli apparati per la trasfusione del sangue e delle sue frazioni vengono fabbricati in conformità con le norme di buona fabbricazione per i dispositivi medici e con ogni normativa nazionale pertinente.

SAGGI

Effettuare i saggi su apparati tubolari sterilizzati.

Soluzione S. Preparare un sistema a circuito chiuso con tre apparati tubolari e un recipiente di vetro borosilicato da 300 ml. Collegare al recipiente un termostato che mantenga la temperatura del liquido nel recipiente a 37 ± 1 °C. Far circolare 250 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* attraverso il sistema, nel senso utilizzato per la trasfusione, per 2 h alla velocità di un litro all'ora (per esempio utilizzando una pompa peristaltica collegata per mezzo di una tubatura di silicone elastomero appropriata quanto più possibile corta). Raccogliere la totalità della soluzione e lasciar raffreddare.

Aspetto della soluzione S. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 25 ml di soluzione S aggiungere 0,15 ml di *BRP indicatore soluzione R*. Non sono necessari più di 0,5 ml di *sodio idrossido 0,01 M* per far virare il colore dell'indicatore al blu. A 25 ml di soluzione S aggiungere 0,2 ml di *metilarancio soluzione R*. Non sono necessari più di 0,5 ml di *acido cloridrico 0,01 M* per arrivare all'inizio del viraggio dell'indicatore.

Assorbanza (2.2.25). Esaminata fra 230 nm e 250 nm, la soluzione S non mostra alcuna assorbanza superiore a 0,30. Fra 251 nm e 360 nm, la soluzione S non mostra alcuna assorbanza superiore a 0,15.

Ossido di etilene. Se l'etichetta indica che per la sterilizzazione è stato utilizzato ossido di etilene, il suo contenuto, determinato con il metodo riportato di seguito, non supera 10 ppm. Esaminare per gas cromatografia (2.2.28).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito utilizzando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 1,5 m e con diametro interno di 6,4 mm impaccata con *terra d'in-fusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con *macrogol 1500 R* (3 g per 10 g),
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 20 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 40 °C, quella dell'iniettore a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Verificare l'assenza di picchi che interferiscono con quello dell'ossido di etilene effettuando il saggio con un apparato tubolare non sterilizzato oppure utilizzando un sistema cromatografico diverso, come:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 3 m e con diametro interno di 3,2 mm impaccata con *terra d'in-fusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con *triscianoetossipropano R* (2 g per 10 g),
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 20 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C, quella dell'iniettore a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Soluzione di ossido di etilene. Preparare sotto cappa ventilata. Porre 50,0 ml di *dimetilacetammide R* in un flaconcino da 50 ml, chiudere, fissare il tappo e pesare con la precisione di 0,1 mg. Riempire una siringa da 50 ml di polietilene o di polipropilene con *ossido di etilene R* gassoso, lasciare che il gas rimanga a contatto con la siringa per circa 3 min, vuotare la siringa e riempirla di nuovo con 50 ml di *ossido di etilene R* gassoso. Applicare alla siringa un ago ipodermico e ridurre il volume del gas nella siringa da 50 ml a 25 ml. Iniettare questi 25 ml di ossido di etilene lentamente nel flaconcino, agitando leggermente ed evitando il contatto fra l'ago e il liquido. Pesare di nuovo il flaconcino: l'aumento di massa è compreso fra 45 mg e 60 mg ed è utilizzato per calcolare la concentrazione esatta della soluzione (circa 1 g per litro).

Saggio. Pesare l'apparato tubolare dopo averlo tolto dall'imballaggio, tagliarlo in pezzi della dimensione massima di 1 cm e introdurli in un recipiente da 250-500 ml contenente 150 ml di *dimetilacetammide R*. Chiudere il recipiente con un tappo appropriato e assicurare la chiusura. Porre il recipiente in stufa a 70 ± 1 °C per 16 h. Prelevare 1 ml del gas caldo dal recipiente e iniettarlo nella colonna. Dalla curva di taratura e dall'altezza del picco ottenuto, calcolare la massa di ossido di etilene contenuta nel recipiente.

Curva di taratura. In una serie di sette recipienti dello stesso tipo di quello utilizzato nel saggio e contenenti ciascuno 150 ml di *dimetilacetammide R*, porre rispettivamente 0 ml, 0,05 ml, 0,10 ml, 0,20 ml, 0,50 ml, 1,00 ml e 2,00 ml della soluzione di ossido di etilene, cioè circa 0 µg, 50 µg, 100 µg, 200 µg, 500 µg, 1000 µg e 2000 µg di ossido di etilene. Chiudere i recipienti, fissare i tappi e porre i recipienti in stufa a 70 ± 1 °C per 16 h. Iniettare 1 ml del gas caldo da ciascun recipiente nella colonna e tracciare una curva di taratura dalle altezze dei picchi e dalla massa di ossido di etilene presente in ogni recipiente.

Sostanze riducenti. Effettuare il saggio entro 4 h dalla preparazione della soluzione S. A 20,0 ml di soluzione S

aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Bollire per 3 min e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,01 M* utilizzando 0,25 ml di *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una prova in bianco utilizzando 20 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. La differenza fra i volumi delle due titolazioni non è superiore a 2,0 ml.

Particelle estranee. Riempire l'apparato tubolare attraverso il normale orifizio d'entrata con una soluzione (0,1 g/l) di *sodio laurilsolfato R* precedentemente filtrata attraverso un filtro di vetro poroso (16) (2.1.2) e riscaldata a 37 °C. Raccogliere il liquido attraverso l'uscita normale. Esaminato in condizioni idonee di visibilità, il liquido è limpido e praticamente privo di particelle e di filamenti visibili (si presuppone che siano visibili ad occhio nudo particelle e filamenti con diametro uguale o superiore a 50 µm).

Velocità di flusso. Passare attraverso un dispositivo completo, con il regolatore di flusso completamente aperto, 50 ml di una soluzione avente una viscosità di 3 mPa·s (3 cP) (per esempio una soluzione (33 g/l) di *macrogol 4000 R* a 20 °C) con un dislivello costante di 1 m tra il tappo del recipiente e il tubo porta-ago dell'apparato tubolare. Il tempo necessario per il passaggio di 50 ml della soluzione non è superiore a 90 secondi.

Resistenza alla pressione. Chiudere ermeticamente le estremità dell'apparato tubolare e qualunque dispositivo di presa d'aria. Collegare il sistema con una sorgente di aria compressa munita di un regolatore di pressione e immergerlo in una vaschetta d'acqua a 20-23 °C. Applicare progressivamente una sovrappressione di aria di 100 kPa e mantenerla per 1 min. Non deve fuoriuscire alcuna bolla d'aria dal deflussore.

Trasparenza. Utilizzare come sospensione di riferimento la sospensione opalescente primaria (2.2.1) diluita 1 a 8 per sistemi che hanno tubulature con diametro esterno inferiore a 5 mm e diluita 1 a 16 per quelli che hanno tubulature con diametro esterno di 5 mm o più. Far circolare la sospensione di riferimento attraverso il sistema e confrontare con un apparato tubolare dello stesso lotto riempito con *acqua R*. L'opalescenza e la presenza di bollicine sono rilevabili.

Residuo all'evaporazione. Evaporare 50,0 ml di soluzione S a secco su un b.m. ed essiccare a massa costante in stufa a 100-105 °C. Effettuare una prova in bianco utilizzando 50,0 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. La differenza fra le masse dei residui non è superiore a 1,5 mg.

Sterilità (2.6.1). Gli apparati tubolari soddisfano al saggio di sterilità. Se è stabilito che i dispositivi siano sterili solo internamente, passare 50 ml di una soluzione di sodio cloruro-peptone tamponata a pH 7,0 (2.6.12) attraverso l'apparato e utilizzarla per effettuare il saggio con il metodo della filtrazione su membrana.

Se è stabilito che i dispositivi siano sterili sia internamente che esternamente, aprire l'imballaggio con le necessarie precauzioni asettiche e:

- per il metodo dell'inoculazione diretta, porre il dispositivo o i suoi componenti in un recipiente adatto contenente una quantità di terreno di coltura sufficiente ad assicurare l'immersione completa;
- per il metodo della filtrazione su membrana porre il dispositivo o i suoi componenti in un recipiente adatto contenente una quantità di una soluzione di sodio cloruro-peptone tamponata a pH 7,0 (2.6.12) sufficiente a permettere un risciacquo totale per 10 min.

Pirogeni (2.6.8). Collegare insieme cinque apparati tubolari e passare attraverso l'insieme, ad una velocità di flusso non superiore a 10 ml per minuto, 250 ml di una soluzione (9 g/l) sterile, apirogena di *sodio cloruro R*. Raccogliere asepticamente la soluzione in un contenitore esente da pirogeni. La soluzione soddisfa al saggio per i pirogeni. Iniettare 10 ml per chilogrammo di massa corporea del coniglio.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso, che il dispositivo è stato sterilizzato utilizzando ossido di etilene.

3.2.8. SIRINGHE DI PLASTICA MONOUSO STERILI

Le siringhe di plastica monouso sterili sono dispositivi medici destinati all'uso immediato per la somministrazione di preparazioni iniettabili. Sono fornite sterili e apirogene e non devono essere sterilizzate nuovamente o riutilizzate. Sono costituite da un corpo cilindrico e da uno stantuffo che può portare un anello di chiusura di elastomero; possono essere munite di un ago che può essere fisso. Ogni siringa è fornita con una protezione individuale per mantenere la sterilità.

Il corpo cilindrico della siringa è sufficientemente trasparente per permettere di leggere senza difficoltà il volume del liquido da somministrare e di individuare bolle d'aria e particelle estranee.

Le plastiche e i materiali elastomeri di cui sono fatti corpo e stantuffo, soddisfano alla appropriata specifica o ai requisiti fissati dall'autorità competente. I materiali più comunemente utilizzati sono il polipropilene e il polietilene. Le siringhe rispondono alle norme usuali circa le dimensioni e l'utilizzazione.

Per facilitare il funzionamento della siringa si può applicare sulle pareti interne del corpo olio di silicone (3.1.8) ma non deve rimanerne un eccesso in grado di contaminare il contenuto al momento dell'uso.

Inchiostri, gomme e adesivi utilizzati per marcare la siringa o l'imballaggio e, se necessario, l'insieme della siringa e del suo imballaggio, non devono migrare attraverso le pareti.

SAGGI

Soluzione S. Preparare la soluzione in modo da evitare contaminazione da particelle estranee. Utilizzando un numero di siringhe sufficiente per ottenere 50 ml di soluzione, riempire le siringhe al loro volume nominale con *acqua per preparazioni iniettabili R* e mantenere a 37 °C per 24 h. Svuotare le siringhe e riunire i contenuti in un adatto recipiente di vetro borosilicato.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II*, 2.2.2) ed è praticamente esente da particelle solide.

Acidità o alcalinità. A 20 ml di soluzione S aggiungere 0,1 ml di *blu bromotimolo soluzione R1*. Per il viraggio dell'indicatore non sono necessari più di 0,3 ml di *sodio idrossido 0,01 M* oppure di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza (2.2.25). Misurare l'assorbanza della soluzione S da 220 nm a 360 nm. L'assorbanza non è superiore a 0,40.

Ossido di etilene. Se l'etichetta indica che per la sterilizzazione è stato utilizzato ossido di etilene, il suo contenuto, determinato con il metodo descritto più avanti, non è superiore a 10 ppm. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito utilizzando:

- una colonna d'acciaio inossidabile lunga 1,5 m e con diametro interno di 6,4 mm impaccata con *terra d'in-fusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con *macrogol 1500 R* (3 g per 10 g),
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 20 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 40 °C, quella dell'iniettore a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Verificare l'assenza di picchi che interferiscono con quello dell'etilene ossido effettuando il saggio con una siringa non sterilizzata oppure utilizzando un sistema cromatografico diverso, come:

- una colonna d'acciaio inossidabile lunga 3 m e con diametro interno di 3,2 mm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con *triscianoetossipropano R* (2 g per 10 g),
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 20 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C, quella dell'iniettore a 100 °C e quella del rivelatore a 150 °C.

Soluzione di ossido di etilene. Preparare sotto una cappa ventilata. Porre 50,0 ml di *dimetilacetammide R* in un flaconcino da 50 ml, chiudere, fissare il tappo e pesare con la precisione di 0,1 mg. Riempire una siringa da 50 ml di polietilene o di polipropilene con *ossido di etilene R* gassoso, lasciare che il gas rimanga a contatto con la siringa per circa 3 minuti, vuotare la siringa e riempirla di nuovo con 50 ml di *ossido di etilene R* gassoso. Applicare alla siringa un ago ipodermico e ridurre il volume del gas nella siringa da 50 ml a 25 ml. Iniettare questi 25 ml di ossido di etilene lentamente nel flaconcino, agitando leggermente ed evitando il contatto fra l'ago e il liquido. Pesare di nuovo il flaconcino: l'aumento di massa è compreso fra 45 mg e 60 mg ed è utilizzato per calcolare la concentrazione esatta della soluzione (circa 1 g per litro).

Curva di taratura. In una serie di sette recipienti dello stesso tipo di quello utilizzato nel saggio e contenenti ciascuno 150 ml di *dimetilacetammide R*, porre rispettivamente 0 ml, 0,05 ml, 0,10 ml, 0,20 ml, 0,50 ml, 1,00 ml e 2,00 ml della soluzione di ossido di etilene, cioè circa 0 µg, 50 µg, 100 µg, 200 µg, 500 µg, 1000 µg e 2000 µg di ossido di etilene. Chiudere i recipienti, fissare i tappi e porre i recipienti in stufa a 70 ± 1 °C per 16 h. Iniettare 1 ml del gas caldo da ciascun recipiente nella colonna e tracciare una curva di taratura dalle altezze dei picchi e dalla massa di etilene ossido presente in ogni recipiente.

Saggio. Pesare la siringa, dopo averla tolta dall'imballaggio, tagliarla in pezzi della dimensione massima di 1 cm e introdurla in un recipiente da 250-500 ml contenente 150 ml di *dimetilacetammide R*. Chiudere il reci-

piente con un tappo appropriato e assicurare la chiusura. Porre il recipiente in stufa a 70 ± 1 °C per 16 h. Prelevare 1 ml del gas caldo dal recipiente e iniettarlo nella colonna. Dalla curva di taratura e dall'altezza del picco ottenuto, calcolare la massa di ossido di etilene contenuta nel recipiente.

Olio di silicone. Calcolare la superficie interna di una siringa in centimetri quadrati utilizzando l'espressione:

$$2\sqrt{V \cdot \pi \cdot h}$$

V = volume nominale di una siringa in cm^3 ,

h = altezza della graduazione in cm.

Prendere un numero di siringhe sufficiente a dare una superficie interna di 100-200 cm^2 . Aspirare in ciascuna siringa un volume di *diclorometano R* uguale alla metà del volume nominale e riempire fino al volume nominale con aria. Sciacquare la superficie interna corrispondente al volume nominale con il solvente capovolgendo la siringa dieci volte in successione tenendo l'orifizio al quale fissare l'ago otturato con un dito ricoperto con una pellicola di plastica inerte al diclorometano. Raccogliere i liquidi in una capsula tarata e ripetere l'operazione. Evaporare a secco a b.m. i liquidi riuniti. Essiccare a 100-105 °C per 1 h. Il residuo pesa non più di 0,25 mg per cm^2 di superficie interna.

Esaminare il residuo per spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Lo spettro mostra bande tipiche dell'olio di silicone a 805 cm^{-1} , 1020 cm^{-1} , 1095 cm^{-1} , 1260 cm^{-1} e 2960 cm^{-1} .

Sostanze riducenti. A 20,0 ml di soluzione S aggiungere 2 ml di *acido solforico R* e 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Bollire per 3 minuti e raffreddare immediatamente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M* utilizzando 0,25 ml di *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco utilizzando 20,0 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*. La differenza fra i volumi usati nelle due titolazioni non è superiore a 3,0 ml.

Trasparenza. Riempire una siringa con *acqua R* (bianco) e riempirne un'altra con una diluizione 1:10 di sospensione primaria opalescente (2.2.1). Utilizzare una sospensione primaria opalescente che è stata lasciata riposare a 20 ± 2 °C per 24 h prima dell'uso. Confrontare a occhio nudo in luce diffusa contro un fondo nero. L'opalescenza della sospensione è visibile per confronto con il bianco.

Sterilità (2.6.1). Le siringhe dichiarate sterili soddisfano al saggio di sterilità effettuato come segue. Aprire l'imballaggio in modo asettico, estrarre la siringa, separare i componenti e porli ciascuno in un adatto recipiente contenente terreno di coltura sufficiente a coprire completamente il pezzo. Utilizzare entrambi i terreni di coltura raccomandati (2.6.1).

Le siringhe dichiarate sterili solo internamente soddisfano al saggio di sterilità effettuato come segue. Utilizzare 50 ml di terreno di coltura per ciascuna siringa in esame. Togliere asetticamente la protezione dell'ago ed immergere quest'ultimo nel terreno di coltura. Lavare la siringa cinque volte sollevando lo stantuffo al suo limite superiore.

Pirogeni (2.6.8). Le siringhe con un volume nominale uguale o superiore a 15 ml soddisfano al saggio per i pirogeni. Riempire un minimo di tre siringhe al loro volume nominale con una soluzione apirogena (9 g/l) di sodio cloruro R e mantenere ad una temperatura di 37 °C per 2 h. Riunire asetticamente le soluzioni in un contenitore apirogeno ed effettuare il saggio immediatamente utilizzando per ciascun coniglio 10 ml della soluzione per chilogrammo di massa corporea.

ETICHETTE

L'etichetta sull'*imballaggio* indica:

- il numero di lotto,
- una descrizione della siringa,
- che la siringa non è riutilizzabile.

L'etichetta sull'*imballaggio esterno* indica:

- il metodo di sterilizzazione,
- che la siringa è sterile, oppure che è sterile solo internamente,
- il nome del produttore,
- che la siringa non deve essere usata se l'imballaggio è danneggiato oppure la protezione di sterilità si è persa.

3.2.9. CHIUSURE IN MATERIALE ELASTOMERO PER CONTENITORI PER PREPARAZIONI ACQUOSE AD USO PARENTERALE, PER POLVERI E PER POLVERI LIOFILIZZATE.

Le chiusure in materiale elastomero (gomma) per contenitori per preparazioni acquose ad uso parenterale sono fatte di materiali ottenuti per vulcanizzazione (reticolazione) di sostanze organiche macromolecolari

(elastomeri), con appropriati additivi. La specifica si applica anche a chiusure per contenitori per polveri o per prodotti liofilizzati da sciogliere in acqua immediatamente prima dell'uso. La specifica non si applica a chiusure di silicone elastomero (che sono trattate in 3.1.9. *Silicone elastomero per chiusure e tubolature*), a chiusure laminate o verniciate. Gli elastomeri si ottengono da sostanze naturali o sintetiche per polimerizzazione, poliaddizione o policondensazione. La natura dei principali componenti e dei vari additivi (per esempio vulcanizzatori, acceleratori, stabilizzanti, pigmenti) dipende dalle proprietà richieste per il prodotto finito.

Le chiusure in gomma possono essere classificate secondo due tipi: chiusure di tipo I sono quelle che soddisfano alle specifiche più rigorose e sono quelle da preferire; chiusure di tipo II sono quelle che, avendo proprietà meccaniche per usi speciali (per esempio, perforazioni multiple) non possono, per la loro composizione chimica, soddisfare a specifiche rigorose come quelle del primo tipo.

Le chiusure scelte per essere usate con una particolare preparazione sono tali che:

- i componenti della preparazione a contatto con la chiusura non sono assorbiti sulla superficie della chiusura e non migrano in o attraverso la stessa in quantità sufficiente da avere un effetto negativo sulla preparazione,
- la chiusura non cede alla preparazione sostanze in quantità sufficiente da influire sulla sua stabilità o da presentare un rischio di tossicità.

Le chiusure sono compatibili con la preparazione per la quale sono utilizzate per tutto il suo periodo di validità.

Il fabbricante della preparazione deve ottenere dal fornitore assicurazione che la composizione della chiusura non cambia e che è identica a quella della chiusura utilizzata durante le prove di compatibilità. Quando il fornitore informa il fabbricante della preparazione di cambiamenti nella composizione, le prove di compatibilità devono essere ripetute, totalmente o parzialmente, secondo la natura dei cambiamenti.

Le chiusure vengono lavate e possono essere sterilizzate prima dell'uso.

CARATTERI

Le chiusure in materiale elastomero sono elastiche, traslucide od opache e non hanno colorazione caratteristica, dipendendo quest'ultima dagli additivi usati.

Sono praticamente insolubili in tetraidrofurano nel quale, tuttavia, si può avere un notevole e reversibile rigonfiamento. Sono omogenee e praticamente prive di rilievi casuali e di inclusioni accidentali (per esempio fibre, particelle estranee, cascami di gomma).

L'identificazione del tipo di materiale elastomero utilizzato per le chiusure non rientra nello scopo di questa specifica. Il saggio di identificazione riportato più avanti distingue chiusure di elastomero e di non-elastomero ma non differenzia i vari tipi di gomma. Altri saggi di identità possono essere effettuati per rilevare, in un lotto, differenze rispetto alle chiusure utilizzate per prove di compatibilità. Per questo scopo si possono utilizzare uno o più dei seguenti metodi analitici: determinazione della densità relativa, determinazione delle ceneri solforiche, determinazione del contenuto di zolfo, cromatografia su strato sottile effettuata su un estratto, spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto di un estratto, spettrofotometria di assorbimento nell'infrarosso del prodotto di pirolisi.

IDENTIFICAZIONE

- A. L'elasticità è tale che una striscia di materiale con sezione da 1 mm^2 a 5 mm^2 può essere tirata a mano ad una lunghezza almeno due volte quella iniziale. Tenendola allungata a due volte la sua lunghezza per 1 min, la striscia ritorna entro 30 s a meno di 1,2 volte la sua lunghezza iniziale.
- B. Scaldare 1-2 g in un tubo da saggio resistente al calore su fiamma aperta per seccare il campione e continuare il riscaldamento finché vapori di pirolisato condensano presso la sommità della provetta. Depositare poche gocce di pirolisato su un disco di potassio bromuro ed esaminare per spettrofotometria di assorbimento nell'infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con il campione tipo.
- C. Le ceneri totali (2.4.16) sono entro ± 10 per cento del risultato ottenuto con il campione tipo.

SAGGI

I campioni da analizzare possono esser lavati e sterilizzati prima dell'uso.

Soluzione S. Introdurre un numero di chiusure non tagliate, corrispondenti ad una superficie totale di

circa 100 cm^2 , in un idoneo recipiente di vetro, coprire con *acqua per preparazioni iniettabili R*, bollire per 5 min e sciacquare cinque volte con *acqua per preparazioni iniettabili R* fredda. Porre le chiusure lavate in una beuta a collo largo (vetro tipo I, 3.2.1), aggiungere 200 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R* e pesare. Coprire l'apertura della beuta con un recipiente di vetro borosilicato. Scaldare in un autoclave in modo da raggiungere in 20-30 min la temperatura di $121 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e mantenere questa temperatura per 30 min. Raffreddare a temperatura ambiente in 30 min circa. Riportare alla massa iniziale con *acqua per preparazioni iniettabili R*. Agitare e separare immediatamente la soluzione dalle chiusure per decantazione. Agitare la soluzione S prima di ogni saggio.

Bianco. Preparare un bianco nello stesso modo utilizzando 200 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*.

Aspetto della soluzione. La soluzione S non è più opalescente della sospensione di riferimento II per chiusure di tipo I e non è più opalescente della sospensione di riferimento III per chiusure di tipo II (2.2.1). La soluzione S non è più intensamente colorata della soluzione di riferimento GB₅ (Metodo II, 2.2.2).

Acidità o alcalinità. A 20 ml di soluzione S aggiungere 0,1 ml di *blu bromotimolo soluzione R1*. Per il viraggio dell'indicatore rispettivamente al blu o al giallo non sono necessari più di 0,3 ml di *sodio idrossido 0,01 M* o 0,8 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Assorbanza. Effettuare il saggio entro 5 h dalla preparazione della soluzione S. Filtrare la soluzione S su una membrana filtrante avente pori di circa $0,45 \mu\text{m}$ scartando i primi pochi millilitri di filtrato. Misurare l'assorbanza (2.2.25) del filtrato a lunghezza d'onda da 220 nm a 360 nm, utilizzando il bianco (vedi soluzione S) come liquido di compensazione. A queste lunghezze d'onda, l'assorbanza non deve essere superiore a 0,2 per chiusure di tipo I o a 4,0 per chiusure di tipo II. Se necessario, diluire il filtrato prima di misurare l'assorbanza e correggere il risultato per la diluizione.

Sostanze riducenti. Effettuare il saggio entro 4 h dalla preparazione della soluzione S. A 20,0 ml di soluzione S aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R* e 20,0 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. Bollire per 3 min e raffreddare. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e titolare

immediatamente con *sodio tiosolfato 0,01 M* utilizzando 0,25 ml di *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una titolazione utilizzando 20,0 ml del bianco. La differenza fra i volumi usati nelle due titolazioni non è superiore a 3,0 ml per chiusure di tipo I e a 7,0 ml per chiusure di tipo II.

Ammonio (2.4.1): massimo 2 ppm.

Diluire 5 ml di soluzione S a 14 ml di *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite A.

Zinco estraibile: non più di 5,0 µg di Zn estraibile per millilitro di soluzione S, determinato per spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire 10,0 ml di soluzione S a 100 ml con *acido cloridrico 0,1 M*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando *soluzione standard di zinco (Zn 10 ppm) R* diluite con *acido cloridrico 0,1 M*.

Sorgente: lampada a catodo cavo allo zinco.

Lunghezza d'onda: 213,9 nm.

Fiamma: aria-acetilene.

Metalli pesanti estraibili (2.4.8): massimo 2 ppm. La soluzione S soddisfa al saggio limite A. Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm) R*.

Residuo all'evaporazione. Evaporare 50,0 ml di soluzione S a secco a b.m. ed essiccare a 100-105 °C. Il residuo pesa non più di 2,0 mg per gomma di tipo I e non più di 4,0 mg per quella di tipo II.

Solfuri volatili. Porre chiusure, tagliate se necessario, con una superficie totale di $20 \pm 2 \text{ cm}^2$ in una beuta da 100 ml e aggiungere 50 ml di una soluzione (20 g/l) di *acido citrico R*. Porre un frammento di *piombo acetato cartina R* sull'apertura della beuta e mantenerla in posizione ponendole sopra un pesafiltri rovesciato. Scaldare in autoclave a $121 \pm 2 \text{ °C}$ per 30 min. Qualunque macchia nera sulla carta non è più intensa di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente nello stesso modo utilizzando 0,154 mg di *sodio solfuro R* e 50 ml di una soluzione (20 g/l) di *acido citrico R*.

Per i saggi di perforabilità, cessione di frammenti e auto-sigillatura, utilizzare chiusure trattate come descritto per la preparazione della soluzione S e lasciar seccare.

Perforabilità. Per chiusure che saranno perforate da un ago ipodermico, effettuare il saggio seguente. Riempire 10 contenitori adatti al volume nominale con *acqua R*,

collocare le chiusure da esaminare e assicurare con una capsula. Utilizzando per ciascuna un ago ipodermico nuovo, lubrificato, con lunga smussatura⁽¹⁾ (angolo di smussatura $12 \pm 2^\circ$), con un diametro esterno di 0,8 mm perforare le chiusure tenendo l'ago perpendicolare alla superficie. La forza necessaria per la perforazione, determinata con la precisione di $\pm 0,25 \text{ N}$ (25 g forza) non è superiore a 10 N (1 kg forza) per ciascuna chiusura.

Cessione di frammenti. Per chiusure da perforare con un ago ipodermico, effettuare il saggio seguente. Se le chiusure devono essere utilizzate per preparazioni acquose, porre in 12 contenitori puliti un volume di *acqua R* corrispondente al volume nominale meno 4 ml, chiudere i contenitori con le chiusure in esame, fissare con una capsula e lasciar riposare per 16 h. Se le chiusure devono essere utilizzate per preparazioni secche, chiudere 12 contenitori puliti con le chiusure in esame. Utilizzando un ago ipodermico lubrificato con lunga smussatura⁽¹⁾ (angolo di smussatura $12 \pm 2^\circ$), con diametro esterno di 0,8 mm adattato a una siringa pulita, introdurre nel contenitore 1 ml di *acqua R* ed estrarre 1 ml di aria, effettuare questa operazione quattro volte per ciascuna chiusura, perforando ogni volta in un punto diverso. Utilizzare un ago nuovo per ciascuna chiusura e verificare che l'ago non si sia spuntato durante il saggio. Passare il liquido dei contenitori attraverso un filtro con pori di circa 0,5 µm. Contare i frammenti di gomma visibili ad occhio nudo. Il numero totale di frammenti non è superiore a cinque. Questo limite si basa sull'assunto che frammenti con diametro uguale o superiore a 50 µm sono visibili a occhio nudo; in caso di dubbio o controversia, i frammenti vengono esaminati al microscopio per verificare la loro natura e dimensione.

Saggi per l'auto-sigillatura. Per chiusure da utilizzare con contenitori multidosi, effettuare il seguente saggio. Riempire dieci idonei contenitori al volume nominale con *acqua R*, inserire le chiusure in esame e fissarle con una capsula. Utilizzando per ogni chiusura un ago ipodermico nuovo con diametro esterno di 0,8 mm, perforare ciascuna chiusura dieci volte, ogni volta in un punto diverso. Immergere in contenitori in posizione verticale in una soluzione (1 g/l) di *blu metilene R* e ridurre la pressione esterna a 27 kPa per 10 min. Ristabilire la pressione atmosferica e lasciare i contenitori immersi per 30 min. Sciacquare esternamente i contenitori. Nessuno contiene traccia di soluzione colorata.

⁽¹⁾ Vedere ISO 7864 "Aghi ipodermici sterili monouso".

4. Reattivi

4.	Reattivi	521	4.1.3.	Soluzioni tampone	658
4.1.	Reattivi, soluzioni standard, soluzioni tampone	521	4.2.	Analisi volumetriche	664
4.1.1.	Reattivi	521	4.2.1.	Reattivi speciali per volumetria . . .	664
4.1.2.	Soluzioni standard per saggi limite	654	4.2.2.	Soluzioni titolate	665

4. REATTIVI

Informazioni addizionali sui reattivi che possono essere identificati completamente solo con il marchio di fabbrica o dei quali si ha disponibilità limitata possono essere trovate su KNOWLEDGE DATABASE sul sito internet dell'EDQM (vedere www.edqm.eu, sezione Databases).

Questa indicazione viene data solo per facilitare il reperimento di tali reattivi e in alcun modo suggerisce che i fornitori menzionati siano raccomandati in modo particolare o certificati dalla Commissione di Farmacopea Europea o dal Consiglio d'Europa. È quindi legittimo utilizzare reattivi di altra provenienza, purché soddisfino le norme di Farmacopea.

4.1. REATTIVI, SOLUZIONI STANDARD, SOLUZIONI TAMPONE

Il nome di una sostanza o di una soluzione seguito dalla lettera R (tutto in corsivo), indica che il reattivo è incluso nella seguente lista. Le specifiche date per i reattivi non garantiscono che la loro qualità sia idonea per l'uso nei medicinali.

Nell'ambito della descrizione di ogni reattivo vi è un codice di riferimento a sette cifre in corsivo (per esempio, 1002501). Questo numero, che rimarrà invariato per un dato reattivo durante le successive revisioni della lista, è usato per scopi identificativi e può tornare utile anche agli utilizzatori della Farmacopea, per esempio nella gestione dei reattivi; i reattivi presenti nei testi FU sono caratterizzati dalla assenza di tale numero. La descrizione può anche includere un numero CAS (Chemical Abstract Service Registry Number) riconoscibile dal suo formato tipico, per esempio [9002-93-1].

Alcuni reattivi inclusi nella lista sono tossici e devono essere maneggiati in conformità con le norme di buona pratica di laboratorio.

I reattivi in soluzione acquosa sono preparati utilizzando acqua R. Quando la soluzione di un reattivo è descritta usando un'espressione tipo "acido cloridrico (HCl 10 g/l)", la soluzione è preparata mediante appropriata diluizione con acqua R di una soluzione più concentrata del reattivo specificato in questa sezione. Le soluzioni dei reattivi utilizzate nei saggi limite per il bario, per il calcio e per i solfati sono preparate usando acqua distillata R. Quando non è indicato il nome del solvente si intende una soluzione acquosa.

I reattivi e le soluzioni dei reattivi devono essere conservate in recipienti ben chiusi. Le etichette devono essere conformi alla legislazione nazionale e alle disposizioni internazionali.

4.1.1. REATTIVI

Acebutololo cloridrato. 1148900. [34381-68-5].

Vedere la monografia *Acebutololo cloridrato* (0871).

Acetaldeide. C₂H₄O. (M_r 44,1). 1000200. [75-07-0]. Etanale.

Liquido infiammabile, incolore, limpido, miscibile con acqua e con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,788.

n_D^{20} : circa 1,332

p.e.: circa 21° C.

Acetale. C₆H₁₄O₂. (M_r 118,2). 1112300. [105-57-7]. Acetaldeide dietilacetale. 1,1-Dietossietano.

Liquido volatile limpido, incolore, miscibile con acqua e con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,824.

n_D^{20} : circa 1,382.

p.e.: circa 103 °C.

Acetilacetammide. C₄H₇NO₂. (M_r 101,1). 1102600. [5977-14-0]. 3-Ossobutanammide.

p.f.: da 53 °C a 56 °C.

Acetilacetone. C₅H₈O₂. (M_r 100,1). 1000900. [123-54-6]. 2,4-Pentandione.

Liquido incolore o leggermente giallo, facilmente infiammabile, molto solubile in acqua, miscibile con acetone, con alcool, con etere e con acido acetico glaciale.

n_D^{20} : da 1,452 a 1,453.

p.e.: da 138 °C a 140 °C.

Acetilacetone reattivo R1. 1000901.

A 100 ml di ammonio acetato soluzione R aggiungere 0,2 ml di acetilacetone R.

N-Acetil-ε-caprolattame. C₈H₁₃NO₂. (M_r 155,2). 1102700. [1888-91-1]. N-Acetilesano-6-lattame.

Liquido incolore, miscibile con etanolo.

d_{20}^{20} : circa 1,100.

n_D^{20} : circa 1,489.

p.e.: circa 135 °C.

Acetilcolina cloruro. C₇H₁₆ClNO₂. (M_r 181,7). 1001000. [60-31-1].

Polvere cristallina, solubilissima in acqua fredda e in alcool, praticamente insolubile in etere; si decompone in acqua calda e in alcali.

Conservare a -20 °C.

Acetile cloruro. C₂H₃ClO. (M_r 78,5). 1000800. [75-36-5].

Liquido infiammabile, incolore, limpido, si decompone a contatto con acqua e con alcool, miscibile con dicloroetano.

d_{20}^{20} : circa 1,10.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 49 °C e 53 °C.

Acetileugenolo. C₁₂H₁₄O₃. (M_r 206,2). 1100700. [93-28-7]. 2-Metossi-4-(2-propenil)fenilacetato.

Liquido oleoso giallo, molto solubile in alcool e in etere, praticamente insolubile in acqua.

n_D^{20} : circa 1,521.

p.e.: da 281 °C a 282 °C.

L'acetileugenolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Garofano essenza (1091)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

N-Acetilglucosammina. C₈H₁₅NO₆. (M_r 221,2). 1133600. [7512-17-6]. 2-(Acetilammino)-2-desossi-D-glucopiranosio.

p.f.: circa 202 °C.

Acetiltirosina estere etilico. C₁₃H₁₇NO₄·H₂O. (M_r 269,3). 1001200. [36546-50-6]. N-Acetil-L-tirosina estere etilico monoidrato. Etile (S)-2-acetammido-3-(4-idrossifenil)propionato monoidrato.

Polvere cristallina bianca idonea per il dosaggio della chimotripsina.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 21 a + 25, determinato su una soluzione 10 g/l in alcool R.

$A_{1cm}^{1\%}$: da 60 a 68, determinata a 278 nm in alcool R.

Acetiltirosina estere etilico 0,2 M. 1001201.

Disciogliere 0,54 g di *acetiltirosina estere etilico R* in alcool R e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

N-Acetilriptofano. C₁₃H₁₄N₂O₃. (M_r 246,3). 1102800. [1218-34-4]. Acido 2-acetilammino-3-(indol-3-il)propionico.

Polvere bianca o quasi bianca o cristalli incolori, moderatamente solubile in acqua. Si scioglie nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

p.f.: circa 205 °C.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 10,0 mg in una miscela di 10 volumi di *acetone R* e 90 volumi di *acqua R* e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi. Esaminare come prescritto nella monografia *Triptofano (1272)* nel paragrafo "1,1'-Etilidibis(triptofano) e altre sostanze correlate". L'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto non è inferiore al 99,0 per cento delle aree di tutti i picchi.

Acetone. 1000600. [67-64-1]. Vedere la monografia *Acetone (0872)*.

Acetone deuterato. C₃²H₆O. (M_r 64,1). 1024900. [666-52-4]. Acetone-d₆. (²H₆)-Acetone.

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,7 per cento.

Liquido limpido, incolore, miscibile con acqua, con dimetilformammide, con etanolo, con etere e con metanolo.

d_{20}^{20} : circa 0,87.

n_D^{20} : circa 1,357.

p.e.: circa 55 °C.

Acqua e deuterio ossido: Non più dello 0,1 per cento.

Acetonitrile. C₂H₃N. (M_r 41,05). 1000700. [75-05-8]. Metile cianuro. Etanonitrile.

Liquido, limpido, incolore, miscibile con acqua, con acetone, con etere e con metanolo.

d_{20}^{20} : circa 0,78.

n_D^{20} : circa 1,344.

Una soluzione 100 g/l è neutra al tornasole cartina.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 80 °C e 82 °C.

L'acetonitrile utilizzato in spettrofotometria soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25) 98 per cento da 255 nm a 420 nm, usando *acqua R* come bianco.

Acetonitrile R1. 1000702.

Soddisfa ai requisiti prescritti per l'*acetonitrile R* e agli ulteriori requisiti seguenti:

Contiene non meno del 99,9 per cento di C₂H₃N.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza a 200 nm, usando *acqua R* come liquido di compensazione, non è superiore a 0,10.

Acetonitrile per cromatografia. 1000701. Vedere *acetonitrile R*.

L'acetonitrile utilizzato in cromatografia soddisfa agli ulteriori requisiti seguenti:

Trasmittanza minima (2.2.25). 98 per cento a 240 nm, usando *acqua R* come bianco.

Purezza minima (2.2.28). 99,8 per cento.

Acido acetico anidro. C₂H₄O₂. (M_r 60,1). 1000300. [64-19-7].

Contiene non meno del 99,6 per cento m/m di C₂H₄O₂.

Liquido incolore miscibile con acqua, o cristalli lamellari, lucenti, bianchi, solubilissimi in acqua, in alcool, in etere, in glicerolo 85 per cento e nella maggior parte degli oli grassi ed essenziali.

d_{20}^{20} : da 1,052 a 1,053.

p.e.: da 117 °C a 119 °C.

Una soluzione 100 g/l è fortemente acida (2.2.4).

Una soluzione 5 g/l neutralizzata con *ammoniaca diluita R2* dà la reazione caratteristica (b) degli acetati (2.3.1).

Punto di solidificazione (2.2.18). Non inferiore a 15,8 °C.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,4 per cento. Se il contenuto di acqua è superiore allo 0,4 per cento deve essere compensato per aggiunta di una quantità calcolata di *anidride acetica R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Acido acetico deuterato. $C_2^2H_4O_2$. (M_r 64,1). 1101100. [1186-52-3]. Acido tetradeuteroacetico. Acido-*d* acetico- d_3 .

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,7 per cento.

d_{20}^{20} : circa 1,12.

n_D^{20} : circa 1,368.

p.e.: circa 115 °C.

p.f.: circa 16 °C.

Acido acetico glaciale. $C_2H_4O_2$. (M_r 60,1). 1000400. [64-19-7]. Vedere la monografia *Acido acetico glaciale* (0590).

Acido acetico. 1000401.

Contiene non meno di 290 g/l e non più di 310 g/l di $C_2H_4O_2$ (M_r 60,1).

Diluire 30 g di *acido acetico glaciale R* a 100 ml con *acqua R*.

Acido acetico diluito. 1000402.

Contiene non meno di 115 g/l e non più di 125 g/l di $C_2H_4O_2$ (M_r 60,1).

Diluire 12 g di *acido acetico glaciale R* a 100 ml con *acqua R*.

Acido acetico e solforico reattivo.

A 50,0 ml di *acido acetico glaciale R* aggiungere, agitando e raffreddando, sotto acqua corrente ed operando con prudenza, 50,0 ml di *acido solforico R*. Mescolare, agitare energicamente e lasciare a riposo per 2 h. La soluzione pronta all'uso è incolore ed è conservabile in frigorifero per almeno 2 giorni.

Acido N-acetilneuramminico. $C_{11}H_{19}NO_9$. (M_r 309,3). 1001100. [131-48-6]. Acido *O*-sialico.

Cristalli bianchi aghiformi solubili in acqua e in metanolo, poco solubili in etanolo, praticamente insolubili in acetone e in etere.

$[\alpha]_D^{20}$: circa -36, determinato su una soluzione 10 g/l.

p.f.: circa 186 °C con decomposizione.

Acido acrilico. $C_3H_4O_2$. (M_r 72,1). 1133700. [79-10-7]. Acido 2-propenoico. Acido vinilformico.

Contiene non meno del 99 per cento di $C_3H_4O_2$. E' stabilizzato con lo 0,02 per cento di idrochinone monometilere.

Liquido corrosivo, miscibile con acqua e alcool. Polimerizza rapidamente in presenza di ossigeno.

d_{20}^{20} : circa 1,05.

n_D^{20} : circa 1,421.

p.e.: circa 141 °C.

p.f.: da 12 °C a 15 °C.

Acido adipico. $C_6H_{10}O_4$. (M_r 146,1). 1095600. [124-04-9].

Prismi, molto solubili in metanolo, solubili in acetone, praticamente insolubili in etere di petrolio.

p.f.: circa 152 °C.

Acido aleuritico. $C_{16}H_{32}O_5$. (M_r 304,4). 1095700. [533-87-9]. Acido (9*RS*,10*SR*)-9,10,16-triidrossiesadecanoico.

Polvere bianca, untuosa al tatto, solubile in metanolo.

p.f.: circa 101 °C.

Acido amminoacetico. Vedere la monografia *Glicina* (0614).

Acido 2-amminobenzoico. $C_7H_7NO_2$. (M_r 137,1). 1003400. [118-92-3]. Acido antranilico, Acido *o*-amminobenzoico.

Polvere cristallina da bianco a giallo pallido, moderatamente solubile in acqua fredda, molto solubile in acqua calda, in alcool, in etere e in glicerolo. Le soluzioni in alcool o in etere e, soprattutto, in glicerolo, mostrano una fluorescenza violetta.

p.f.: circa 145 °C.

Acido 4-amminobenzoico. $C_7H_7NO_2$. (M_r 137,1). 1003300. [150-13-0]. Acido *p*-amminobenzoico.

Polvere cristallina, bianca, poco solubile in acqua, molto solubile in alcool, praticamente insolubile in etere di petrolio.

p.f.: circa 187 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Procaina cloridrato* (0050); il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Conservare al riparo dalla luce.

Acido 4-amminobenzoico soluzione. 1003301. Acido *p*-amminobenzoico soluzione.

Disciogliere 1 g di *acido 4-amminobenzoico R* in una miscela di 18 ml di *acido acetico anidro R*, 20 ml di *acqua R* e 1 ml di *acido fosforico R*. Immediatamente prima dell'uso, mescolare 2 volumi della soluzione con 3 volumi di *acetone R*.

Acido 4-amminobutanoico. $C_4H_9NO_2$. (M_r 103,1). 1123200. [56-12-2]. Acido γ -amminobutirrico. GABA.

Si ottiene sotto forma di lamine da metanolo e etere, aghi da acqua e alcool. Molto solubile in acqua, praticamente insolubile o poco solubile in altri solventi.

p.f.: circa 202 °C (decesce con il riscaldamento rapido).

Acido 6-amminoesanoico. $C_6H_{13}NO_2$. (M_r 131,2). 1103100. [60-32-2].

Cristalli incolori, molto solubili in acqua, moderatamente solubili in metanolo, praticamente insolubili in etanolo.

p.f.: circa 205 °C.

Acido amminoidrossinaftalensolfonico. $C_{10}H_9NO_4S$. (M_r 239,3). 1112400. [116-63-2]. Acido 4-ammino-3-idrossinaftalen-1-solfonico.

Aghi bianchi o grigi, che virano al rosa per esposizione alla luce, specialmente se è umido, praticamente insolubile in acqua, in alcool e in etere, solubile nelle soluzioni di idrossidi alcalini e in soluzioni calde di sodio metabisolfito.

Conservare al riparo dalla luce.

Acido amminoidrossinaftalensolfonico soluzione. 1112401.

Mescolare 5,0 g di sodio solfito anidro *R* con 94,3 g di sodio idrogenosolfito *R* e 0,7 g di acido amminoidrossinaftalensolfonico *R*. Disciogliere 1,5 g della miscela ottenuta in acqua *R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente. Preparare la soluzione in giornata.

Acido amminoippurico. $C_9H_{10}N_2O_3$. (M_r 194,2). 1003700. [61-78-9]. Acido (4-amminobenzammido) acetico.

Polvere bianca o quasi bianca, moderatamente solubile in acqua, solubile in alcool, molto poco solubile in etere.

p.f.: circa 200 °C.

Acido amminoippurico reattivo. 1003701.

Disciogliere 3 g di acido ftalico *R* e 0,3 g di acido amminoippurico *R* in alcool *R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Acido amminometilizarindiacetico. $C_{19}H_{15}NO_8 \cdot 2H_2O$. (M_r 421,4). 1003900. [3952-78-1]. Acido 2,2'-(3,4-didrossiantrachinon-3-il)metilenenitrilo]diacetico diidrato.

Polvere fine, da giallo brunastro pallido a bruno-arancione, praticamente insolubile in acqua, solubile nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

p.f.: circa 185 °C.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 10,0 per cento, determinata su 1,000 g.

Acido amminometilizarindiacetico reattivo. 1003901.

Soluzione I. Disciogliere 0,36 g di cerio(-oso) nitrato *R* in acqua *R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente.

Soluzione II. Sospendere 0,7 g di acido amminometilizarindiacetico *R* in 50 ml di acqua *R*. Disciogliere aggiungendo circa 0,25 ml di ammoniaca concentrata *R*, aggiungere 0,25 ml di acido acetico glaciale *R* e diluire a 100 ml con acqua *R*.

Soluzione III. Disciogliere 6 g di sodio acetato *R* in 50 ml di acqua *R*, aggiungere 11,5 ml di acido acetico glaciale *R* e diluire a 100 ml con acqua *R*.

A 33 ml di acetone *R* aggiungere 6,8 ml della soluzione III, 1,0 ml della soluzione II e 1,0 ml della soluzione I e diluire a 50 ml con acqua *R*.

Saggio di sensibilità. A 1,0 ml della soluzione standard di fluoruro (*F* 10 ppm) *R* aggiungere 19,0 ml di acqua *R* e 5,0 ml di acido amminometilizarindiacetico reattivo. Dopo 20 min, la soluzione assume una colorazione blu.

Usare la soluzione finale entro 5 giorni.

Acido amminometilizarindiacetico soluzione. 1003902.

Disciogliere 0,192 g di acido amminometilizarindiacetico *R* in 6 ml di sodio idrossido 1 *M* preparato di recente. Aggiungere 750 ml di acqua *R*, 25 ml di tampone succinato soluzione a pH 4,6 *R*e, goccia a goccia, acido cloridrico 0,5 *M*, fino a viraggio dal rosso-violetto al giallo (pH 4,5-5). Aggiungere 100 ml di acetone *R* e diluire a 1000 ml con acqua *R*.

Acido 3-amminopropionico. $C_3H_7NO_2$. (M_r 89,1). 1004500. [107-95-9]. β -Alanina.

Contiene non meno del 99 per cento di $C_3H_7NO_2$.

Polvere cristallina, bianca, molto solubile in acqua, poco solubile in alcool, praticamente insolubile in acetone e in etere.

p.f.: circa 200 °C con decomposizione.

Acido ascorbico. 1008400. [50-81-7]. Vedere la monografia *Acido ascorbico* (0253).

Acido ascorbico soluzione. 1008401.

Disciogliere 50 mg di acido ascorbico *R* in 0,5 ml di acqua *R* e diluire a 50 ml con dimetilformammide *R*.

Acido aspartico. 1134100. [56-84-8]. Vedere la monografia *Acido aspartico* (0797).

Acido barbiturico. $C_4H_4N_2O_3$. (M_r 128,1). 1009100. [67-52-7]. 1*H*,3*H*,5*H*-Pirimidin-2,4,6-trione.

Polvere bianca o quasi bianca, poco solubile in acqua, molto solubile in acqua bollente e negli acidi diluiti.

p.f.: circa 253 °C.

Acido benzoico. 1010100. [65-85-0]. Vedere la monografia *Acido benzoico* (0066).

Acido borico. 1011800. [10043-35-3]. Vedere la monografia *Acido borico* (0001).

Acido bromidrico 30 per cento. 1098700. [10035-10-6]. Acido bromidrico al 30 per cento in *acido acetico glaciale R*.

Degassare il contenuto con cautela prima dell'apertura.

Acido bromidrico diluito. 1098701.

Porre 5,0 ml di *acido bromidrico 30 per cento R* in fiale ambrate dotate di chiusure in polietilene. Sigillare sotto *argon R* e conservare al buio. Aggiungere 5,0 ml di *acido acetico glaciale R* immediatamente prima dell'uso. Agitare.

Conservare al buio.

Acido bromidrico 47 per cento. 1118900.

Soluzione al 47 per cento *m/m* di acido bromidrico in *acqua R*.

Acido bromidrico diluito R1. 1118901.

Contiene 7,9 g/l di HBr.

Disciogliere 16,81 g di *acido bromidrico 47 per cento R* in *acqua R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Acido butilboronico. $C_4H_{11}BO_2$. (M_r 101,9). 1013700. [4426-47-5].

Contiene non meno del 98 per cento di $C_4H_{11}BO_2$.

p.f.: da 90 °C a 92 °C.

Acido butirrico. $C_4H_8O_2$. (M_r 88,1). 1014000. [107-92-6]. Acido butanoico.

Contiene non meno del 99,0 per cento di $C_4H_8O_2$.

Liquido oleoso, miscibile in acqua e in alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,96.

n_D^{20} : circa 1,398.

p.e.: circa 163 °C.

Acido caffeico. $C_9H_8O_4$. (M_r 180,2). 1014300. [331-39-5].

Acido (*E*)-3-(3,4-diidrossifenil)propenoico. Acido 3,4-diidrossicinnamico.

Cristalli o lamine, bianchi o quasi bianchi, molto solubili in acqua calda e in alcool, moderatamente solubili in acqua fredda.

p.f.: circa 225 °C, con decomposizione.

Una soluzione preparata di recente a pH 7,6 mostra due massimi di assorbimento (2.2.25) a 293 nm e a 329 nm.

Acido calconcarbossilico. $C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$. (M_r 492,5). 1015300. [3737-95-9]. Acido 2-idrossi-1-(2-idrossi-4-solfonil-naftilazo)naftalen-3-carbossilico.

Polvere nero-brunastra, poco solubile in acqua, molto poco solubile in acetone e in alcool, moderatamente solubile nelle soluzioni diluite di sodio idrossido.

Acido calconcarbossilico miscela composta. 1015301.

Mescolare una parte di *acido calconcarbossilico R* con 99 parti di *sodio cloruro R*

Saggio di sensibilità. Disciogliere 50 mg di acido calconcarbossilico miscela composta in una miscela di 2 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* e 100 ml di *acqua R*. La soluzione è blu ma diventa violetta per aggiunta di 1 ml di una soluzione (10 g/l) di *magnesio solfato R* e 0,1 ml di una soluzione (1,5 g/l) di *calcio cloruro R* e vira ad un'intensa colorazione blu per aggiunta di 0,15 ml di *sodio edetato 0,01 M*.

Acido (1S)-(+)-10-canforsolfonico. $C_{10}H_{16}O_4S$. (M_r 232,3). 1104100. [3144-16-9]. Acido (1S,4R)-(+)-2-oxo-10-bornensolfonico. Acido [(1S)-7,7-Dimetil-2-oxobicyclo[2.2.1]eptan-1-il]-metansolfonico. Acido di Reychler.

Cristalli prismatici, igroscopici, solubili in acqua.

Contiene non meno del 99,0 per cento di acido (1S)-(+)-10-canforsolfonico.

$[\alpha]_D^{20}$: $+20 \pm 1$ (soluzione 43 g/l in *acqua R*).

p.f.: circa 194 °C, con decomposizione.

ΔA (2.2.41): $10,2 \times 10^3$ determinato a 290,5 nm su una soluzione 1,0 g/l.

Acido cianoacetico. $C_3H_3NO_2$. (M_r 85,1). 1097900. [372-09-8].

Cristalli igroscopici da bianchi a bianco-giallastri, solubilissimi in acqua.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Acido cicloesilendinitrilotetracetico. $C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$. (M_r 364,4). 1024100. Acido *trans*-cicloesilen-1,2-dinitrilo-*N,N,N'*-tetracetico monoidrato.

Polvere cristallina bianca.

p.f.: circa 204 °C.

Acido 3-cicloesilpropionico. $C_9H_{16}O_2$. (M_r 156,2). 1119200. [701-97-3].

Liquido limpido.

d_{20}^{20} : circa 0,998.

n_D^{20} : circa 1,4648.

p.e.: circa 130 °C.

Acido citrico. 1021000. [5949-29-1]. Vedere la monografia *Acido citrico monoidrato* (0456).

L'acido citrico utilizzato nel saggio limite per il ferro, soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Disciogliere 0,5 g in 10 ml di *acqua R*, aggiungere 0,1 ml di *acido tioglicolico R*, mescolare e alcalinizzare con *ammoniaca R*. Diluire a 20 ml con *acqua R*. Non compare alcuna colorazione rosa nella soluzione.

Acido citrico anidro. 1021200. [77-92-9]. Vedere la monografia *Acido citrico anidro* (0455).

Acido citrico monoidrato. Vedere *acido citrico R*.

Acido cloridrico. 1043500. [7647-01-0]. Vedere la monografia *Acido cloridrico concentrato (0002)*.

Acido cloridrico R1. 1043501.

Contiene 250 g/l di HCl.

Diluire 70 g di *acido cloridrico R* a 100 ml con *acqua R*.

Acido cloridrico bromurato. 1043507.

Ad 1 ml di *bromo soluzione R* aggiungere 100 ml di *acido cloridrico R*.

Acido cloridrico diluito. 1043503.

Contiene 73 g/l di HCl.

Diluire 20 g di *acido cloridrico R* a 100 ml con *acqua R*.

Acido cloridrico diluito R1. 1043504.

Contiene 0,37 g/l di HCl.

Diluire 1,0 ml di *acido cloridrico diluito R* a 200,0 ml con *acqua R*.

Acido cloridrico diluito R2. 1043505.

Diluire 30 ml di *acido cloridrico 1 M* a 1000 ml con *acqua R*; portare il pH a $1,6 \pm 0,1$.

Acido cloridrico diluito esente da metalli pesanti. 1043509.

L'*acido cloridrico diluito esente da metalli pesanti* soddisfa i saggi prescritti per l'*acido cloridrico diluito R* e i seguenti contenuti massimi in metalli pesanti:

As: 0,005 ppm

Cd: 0,003 ppm

Cu: 0,003 ppm

Fe: 0,05 ppm

Hg: 0,005 ppm

Ni: 0,004 ppm

Pb: 0,001 ppm

Zn: 0,005 ppm

Acido cloridrico esente da metalli pesanti. 1043510.

L'*acido cloridrico esente da metalli pesanti* soddisfa i saggi prescritti per l'*acido cloridrico R* e i seguenti contenuti massimi in metalli pesanti:

As: 0,005 ppm

Cd: 0,003 ppm

Cu: 0,003 ppm

Fe: 0,05 ppm

Hg: 0,005 ppm

Ni: 0,004 ppm

Pb: 0,001 ppm

Zn: 0,005 ppm

Acido cloridrico esente da piombo. 1043508.

Soddisfa ai requisiti prescritti per l'*acido cloridrico R* e all'ulteriore saggio seguente:

Piombo. Non più di 20 ppm di Pb determinato mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. In un crogiolo di quarzo evaporare quasi fino a secco 200 g di acido da esaminare. Riprendere il residuo con 5 ml di acido nitrico preparato mediante distillazione al di sotto del punto di ebollizione dell'*acido nitrico R* ed evaporare a secco. Riprendere il residuo con 5 ml di acido nitrico preparato mediante distillazione al di sotto del punto di ebollizione dell'*acido nitrico R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento usando la *soluzione standard di piombo (Pb 0,1 ppm) R* diluita con acido nitrico preparato mediante distillazione al di sotto del punto di ebollizione dell'*acido nitrico R*. Misurare l'intensità di emissione a 220,35 nm.

Acido cloridrico soluzione etanolica. 1043506.

Diluire 5,0 ml di *acido cloridrico 1 M* a 500,0 ml con *alcool R*.

Acido cloridrico soluzione metanolica. 1053203.

Diluire 1,0 ml di *acido cloridrico R1* a 100,0 ml con *metanolo R*.

Acido cloridrico Pb R. Vedere *Acido cloridrico esente da piombo R*.

Acido cloroacetico. $C_2H_3ClO_2$. (M_r 94,5). 1018200. [79-11-8]. Acido monocloroacetico.

Cristalli incolori o bianchi, deliquescenti, solubilissimi in acqua, solubili in alcool e in etere.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Acido 2-clorobenzoico. $C_7H_5ClO_2$. (M_r 156,7). 1139300. [118-91-2].

Solubile in acqua, poco solubile in etanolo.

p.e.: circa 285 °C.

p.f.: circa 140 °C.

Acido clorogenico. $C_{16}H_{18}O_9$. (M_r 354,3). 1104700. [327-97-9]. Acido (1*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-3-[(3,4-diidrossicinnamoyl)oxi]-1,4,5-triidrossicicloesancarbossilico.

Polvere cristallina bianca o aghi bianchi, molto solubile in acqua bollente, in acetone e in etanolo.

$[\alpha]_D^{20}$: circa -35,2.

p.f.: circa 208 °C.

Cromatografia. Esaminato nelle condizioni descritte nell'identificazione A della monografia *Belladonna foglia estratto secco titolato (1294)*, il cromatogramma mostra solo una macchia principale.

Acido 2-cloronicotinic. $C_6H_4ClNO_2$. (M_r 157,6). 1157300. [2942-59-8].

Acido 2-cloropiridin-3-carbossilico.

Polvere bianca o quasi bianca.

p.f.: circa 177 °C.

Contenuto: minimo 95 per cento.

Acido cloroplatinico. $H_2Cl_6Pt.6H_2O$. (M_r 517,9). 1019000. [18497-13-7]. Idrogeno esacloroplatinato(IV) esaidrato.

Contiene non meno del 37,0 per cento *m/m* di platino (A_r 195,1).

Cristalli rosso-brunastri o massa cristallina, solubilissimi in acqua, solubili in alcool.

Determinazione quantitativa. Calcinare 0,200 g a 900 °C fino a massa costante e pesare il residuo (platino).

Conservare al riparo dalla luce.

Acido 5-clorosalicilico. $C_7H_5ClO_3$. (M_r 172,6). 1019100. [321-14-2].

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, solubile in metanolo.

p.f.: circa 173 °C.

Acido cromotropico, sale sodico. $C_{10}H_6Na_2O_8S_2.2H_2O$. (M_r 400,3). 1020300. [5808-22-0]. Schultz No. 1136. Disodio 1,8-diidrossinaftalen-3,6-disolfonato diidrato. Disodio 4,5-diidrossinaftalen-2,7-disolfonato diidrato.

Polvere bianco-giallastra, solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool.

Acido cromotropico sale sodico soluzione. 1020301.

Disciogliere 0,60 g di *acido cromotropico sale sodico R* in circa 80 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Usare la soluzione entro 24 h.

Acido o-cumarico. $C_9H_8O_3$. (M_r 164,2). 1157400. [614-60-8].

Acido (*E*)-2-idrossicinnamico. Acido (2*E*)-3-(2-idrossifenil)-2-propenoico.

Polvere bianca o quasi bianca.

p.f.: circa 217 °C.

Acido p-cumarico. $C_9H_8O_3$. (M_r 164,2). 1157500. [7400-08-0].

Acido 4-idrossicinnamico. Acido 3-(4-idrossifenil)-2-propenoico.

Polvere bianca o quasi bianca.

p.f.: da 214 °C a 217 °C.

L'acido p-cumarico usato nella determinazione quantitativa nella monografia Ortica foglia (1897) soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Perdita all'essiccamento (2.2.32): non più del 5,0 per cento determinato su 0,200 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C per 2 h.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Ortica foglia (1897)*.

Contenuto: non inferiore al 95 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Acido diazobenzensolfonico soluzione R1. 1026500. Acido solfanilico diazotato soluzione R1.

Disciogliere 0,9 g di *acido solfanilico R* in una miscela di 30 ml di *acido cloridrico diluito R* e 70 ml di *acqua R*. A 3 ml della soluzione aggiungere 3 ml di una soluzione (50 g/l) di *sodio nitrito R*. Raffreddare in un bagno di ghiaccio per 5 min, aggiungere 12 ml della soluzione di sodio nitrito e raffreddare di nuovo. Diluire a 100 ml con *acqua R* e porre il reattivo in un bagno di ghiaccio. Preparare estemporaneamente ma lasciare a riposo per 15 min prima dell'uso.

Acido dicloroacetico. $C_2H_2Cl_2O_2$. (M_r 128,9). 1027000. [79-43-6].

Liquido incolore, miscibile con acqua, con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,566.

n_D^{20} : circa 1,466.

p.e.: circa 193 °C.

Acido dicloroacetico soluzione. 1027001.

Diluire 67 ml di *acido dicloroacetico R* a 300 ml con *acqua R* e neutralizzare al *tornasole cartina blu R* usando *ammoniaca R*. Raffreddare, aggiungere 33 ml di *acido dicloroacetico R* e diluire a 600 ml con *acqua R*.

Acido dinitrobenzoico. $C_7H_4N_2O_6$. (M_r 212,1). 1031300. [99-34-3]. Acido 3,5-dinitrobenzoico.

Cristalli quasi incolori, poco solubili in acqua, solubilissimi in alcool.

p.f.: circa 206 °C.

Acido dinitrobenzoico soluzione. 1031301.

Soluzione 20 g/l in *alcool R*.

Acido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico). $C_{14}H_8N_2O_8S_2$. (M_r 396,4). 1097300. [69-78-3]. 3-Carbossi-4-nitrofenil-disolfuro. Reattivo di Ellman. DTNB.

Polvere gialla moderatamente solubile in alcool.

p.f.: circa 242 °C.

Acido docosaesaenoico, estere metilico. $C_{23}H_{34}O_2$. (M_r 342,5). 1142800. [301-01-9]. DHA metil estere. Acido cervonico, estere metilico.

Acido (*tutto-Z*)-Docosa-4,7,10,13,16,19-esaenoico, estere metilico.

Contiene non meno del 90,0 per cento di $C_{23}H_{34}O_2$, determinato mediante gas cromatografia.

Acido (etilendinitrilo)tetracetico. $C_{10}H_{16}N_2O_8$. (M_r 292,2). 1105800. [60-00-4]. *N,N'*-1,2-etandiilbis[*N*-(carbossimetil)glicina]. Acido edetico.

Polvere cristallina bianca, molto poco solubile in acqua.

p.f.: circa 250 °C, con decomposizione.

Acido 2-etilesanoico. $C_8H_{16}O_2$. (M_r 144,2). 1036600. [149-57-5].

Liquido incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,91.

n_D^{20} : circa 1,425.

Sostanze correlate. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28). Iniettare 1 µl di una soluzione preparata come segue: sospendere 0,2 g di acido 2-etilesanoico in 5 ml di *acqua R*, aggiungere 3 ml di *acido cloridrico diluito R* e 5 ml di *esano R*, agitare per 1 min, separare gli strati e usare lo strato superiore. Effettuare il procedimento cromatografico come prescritto nel saggio per l'acido 2-etilesanoico nella monografia *Amoxicillina sodica* (0577). La somma delle aree dei picchi, escluso il picco principale e il picco dovuto al solvente, non è maggiore del 2,5 per cento dell'area del picco principale.

Acido 2-etil-2-metilsuccinico. $C_7H_{12}O_4$. (M_r 160,2). 1036800. [631-31-2]. Acido 2-etil-2-metilbutandioico.

p.f.: da 104 °C a 107 °C.

Acido fenoldisolfonico. Scaldare a b.m., per 6 h, 3 g di *fenolo R* con 20 ml di *acido solforico R*. Conservare la soluzione in una bottiglia di vetro scuro con tappo a smeriglio.

Sensibilità ai nitrati. Evaporare a secco a b.m. una soluzione contenente 0,1 mg di *potassio nitrato R* in un crogiolo di porcellana. Al residuo raffreddato aggiungere 1 ml di *acido fenoldisolfonico R* e lasciare a riposo per 10 min. Aggiungere 10 ml di *acqua R*, raffreddare, aggiungere altri 10 ml di *ammoniaca diluita R1* e diluire a 25 ml con *acqua R*: è visibile una netta colorazione gialla in confronto ad una soluzione preparata nelle stesse condizioni senza il nitrato di potassio.

Acido fenossiacetico. $C_8H_8O_3$. (M_r 152,1). 1063800. [122-59-8]. Acido 2-fenossietanoico.

Cristalli quasi bianchi, moderatamente solubili in acqua, molto solubili in alcool, in etere e in acido acetico glaciale.

p.f.: circa 98 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Fenossimetilpenicillina* (0148); il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Acido ferulico. $C_{10}H_{10}O_4$. (M_r 194,2). 1149500. [1135-24-6]. Acido 4-idrossi-3-metossicinnamico. Acido 3-(4-idrossi-3-metossifenil)propenoico.

Polvere gialla molto solubile in metanolo.

p.f.: tra 172,9 °C e 173,9 °C.

L'acido ferulico utilizzato nel saggio degli eleuterosidi nella monografia Eleuterococco (1419) soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Eleuterococco* (1419).

Il contenuto non è inferiore al 99 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Acido flufenamico. $C_{14}H_{10}F_3NO_2$. (M_r 281,2). 1106200. [530-78-9]. Acido 2-[[[(3-trifluorometil)fenil]ammino]benzoico.

Polvere cristallina o aghi giallo pallidi, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in alcool.

p.f.: da 132 °C a 135 °C.

Acido fluoridrico. HF. (M_r 20,01). 1043600. [7664-39-3].

Contiene non meno del 40,0 per cento *m/m* di HF.

Liquido incolore limpido.

Residuo alla calcinazione. Non superiore allo 0,05 per cento *m/m*. Evaporare l'acido fluoridrico in un crogiolo di platino e essiccare gradualmente il residuo a massa costante.

Determinazione quantitativa. Pesare accuratamente una beuta con tappo a smeriglio contenente 50,0 ml di *sodio idrossido 1 M*. Introdurre 2 g dell'acido fluoridrico e pesare di nuovo. Titolare la soluzione con *acido solforico 0,5 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore. 1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 20,01 mg di HF. Conservare in un recipiente di polietilene.

Acido folico. 1039000. [75708-92-8]. Vedere la monografia *Acido folico* (0067).

Acido formico anidro. CH_2O_2 . (M_r 46,03). 1039300. [64-18-6].

Contiene non meno del 98,0 per cento *m/m* di CH_2O_2 . Liquido incolore, corrosivo, miscibile con acqua e con alcool.

d_{20}^{20} : circa 1,22.

Determinazione quantitativa. Pesare accuratamente una beuta contenente 10 ml di *acqua R*, aggiungere rapidamente 1 ml circa dell'acido e pesare di nuovo. Aggiungere 50 ml di *acqua R* e titolare con *sodio idrossido 1 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 46,03 mg di CH_2O_2 .

Acido fosfomolibdico. $12MoO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot xH_2O$. 1064900. [51429-74-4].

Cristalli fini giallo-arancioni, molto solubili in acqua, solubili in alcool e in etere.

Acido fosfomolibdico soluzione. 1064901.

Disciogliere 4 g di *acido fosfomolibdico R* in *acqua R* e diluire a 40 ml con lo stesso solvente. Aggiungere cautamente, raffreddando, 60 ml di *acido solforico R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Acido fosfomolibdico soluzione R1. Disciogliere 2 g di *acido fosfomolibdico R* in 10 ml di *alcool R*.

Acido fosforico. 1065100. [7664-38-2]. Vedere la monografia *Acido fosforico concentrato (0004)*.

Acido fosforico diluito. 1065101. Vedere la monografia *Acido fosforico diluito (0005)*.

Acido fosforico diluito R1. 1065102.

Diluire 93 ml di *acido fosforico diluito R* a 1000 ml con *acqua R*.

Acido fosforoso. H_3PO_3 . (M_r 82,0). 1130600. [13598-36-2].

Massa cristallina, bianca, molto igroscopica e deliquescente; si ossida lentamente con l'ossigeno (aria) a H_3PO_4 .

Cristalli instabili, ortorombici, solubili in acqua, in alcool e in una miscela di 3 volumi di etere e 1 volume di alcool.

d_4^{21} : circa 1,651.

p.f.: circa 73 °C.

Acido fosfotungstico soluzione. 1065200.

Scaldare a ricadere per 3 h, 10 g di *sodio tungstato R* con 8 ml di *acido fosforico R* e 75 ml di *acqua R*. Lasciar raffreddare e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Acido ftalico. $C_8H_6O_4$. (M_r 166,1). 1065600. [88-99-3]. Acido benzen-1,2-dicarbossilico.

Polvere bianca cristallina, solubile in acqua calda e in alcool.

Acido gallico. $C_7H_6O_5 \cdot H_2O$. (M_r 188,1). 1039800. [5995-86-8]. Acido 3,4,5-triidrossibenzoico monoidrato.

Polvere cristallina o aghi lunghi, incolori o leggermente gialli, solubili in acqua, molto solubili in acqua calda, in alcool e in glicerolo, poco solubili in etere.

Perde l'acqua di cristallizzazione a 120 °C e fonde a circa 260 °C, con decomposizione.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Uva ursina foglia (1054)*; il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Acido glicirretico. $C_{30}H_{46}O_4$. (M_r 470,7). 1040900. [471-53-4]. Acido glicirretinico. Acido 12,13-dideidro-3 β -idrossi-11-oxo-olean-30-oico.

Miscela di acidi α e β glicirretici nei quali l'isomero β è predominante.

Polvere bianca o bruno-giallastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in etanolo e in acido acetico glaciale.

$[\alpha]_D^{20}$: da +145 a +155, determinato su una soluzione 10,0 g/l in *etanolo R*.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento; preparare l'impasto usando una soluzione di *acido fosforico R* allo 0,25 per cento V/V. Deporre sulla lastra 5 μ l di una soluzione (5 g/l) di acido glicirretico in una miscela di volumi uguali di *cloroformio R* e *metanolo R*. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 5 volumi di *metanolo R* e 95 volumi di *cloroformio R*. Esaminare il cromatogramma alla luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma presenta una macchia scura (R_f circa 0,3) corrispondente all'acido β -glicirretico e una macchia più piccola (R_f circa 0,5) corrispondente all'acido α -glicirretico. Spruzzare con *aldeide anisica soluzione R* e scaldare a 100-105 °C per 10 min. Entrambe le macchie hanno una colorazione viola-bluastro. Tra loro può essere presente una macchia più piccola di colorazione viola-bluastro.

Acido 18 α -glicirretinico. $C_{30}H_{46}O_4$. (M_r 470,7). 1127900. [1449-05-4]. Acido (20 β)-3 β -idrossi-11-oxo-18 α -olean-12-en-29-oico.

Polvere bianca o quasi bianca, praticamente insolubile in acqua, solubile in etanolo, moderatamente solubile in diclorometano.

Acido glicolico. $C_2H_4O_3$. (M_r 76,0). 1040800. [79-14-1]. Acido 2-idrossiacetico.

Cristalli, solubili in acqua, in acetone, in alcool, in etere e in metanolo.

p.f.: circa 80 °C.

Acido D-glucuronico. $C_6H_{10}O_7$. (M_r 194,1). 1119700. [6556-12-3].

Contiene non meno del 96,0 per cento di $C_6H_{10}O_7$, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata sotto vuoto (2.2.32).

Solubile in acqua e in alcool.

Mostra mutarotazione. $[\alpha]_D^{24}$: + 11,7 \rightarrow + 36,3.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 0,150 g in 50 ml di *metanolo anidro R* agitando sotto azoto. Titolare con *tetrabuttilammonio idrossido 0,1 M*, proteggendo la soluzione dall'anidride carbonica atmosferica durante la solubilizzazione e la titolazione. Determinare potenziometricamente il punto di fine titolazione (2.2.20).

1 ml di *tetrabuttilammonio idrossido 0,1 M* equivale a 19,41 mg di $C_6H_{10}O_7$.

Acido glutammico. 1040400. [56-86-0]. Vedere la monografia *Acido glutammico* (0750).

Acido glutarico. $C_5H_8O_4$. (M_r 132,1). 1149700. [110-94-1]. Acido pentandioico.

Polvere bianca cristallina.

Acido 4-idrossibenzoico. $C_7H_6O_3$. (M_r 138,1). 1106700. [99-96-7].

Cristalli, poco solubili in acqua, solubilissimi in alcool, solubili in acetone e in etere.

p.f.: da 214 °C a 215 °C.

Acido 2-[4-(2-idrossietil)piperazin-1-il]etansolfonico. $C_8H_{18}N_2O_4S$. (M_r 238,3). 1106800. [7365-45-9]. HEPES.

Polvere bianca.

p.f.: circa 236 °C, con decomposizione.

Acido 4-idrossiisofталico. $C_8H_6O_5$. (M_r 182,1). 1106900. [636-46-4]. Acido 4-idrossibenzen-1,3-dicarbossilico.

Aghi o pagliette, molto poco solubili in acqua, molto solubili in alcool e in etere.

p.f.: circa 314 °C con decomposizione.

Acido 12-idrossistearico. $C_{18}H_{36}O_3$. (M_r 300,5). 1099000. [106-14-9]. Acido 12-idrossiottadecanoico.

Polvere bianca.

p.f.: da 71 °C a 74 °C.

Acido iodidrico. HI. (M_r 127,9). 1098900. [10034-85-2].

Preparare per distillazione di acido iodidrico su fosforo rosso, facendo passare *anidride carbonica R* o *azoto R* nell'apparecchiatura durante la distillazione. Usare la frazione incolore o quasi incolore, che distilla tra 126 °C e 127 °C (55-58 per cento di HI). Porre l'acido in una bottiglia piccola di vetro ambrato con tappo a smeriglio in cui è stato fatto passare in precedenza un flusso di *anidride carbonica R* o di *azoto R* e sigillare con paraffina.

Conservare al buio.

Acido iodoacetico. $C_2H_3IO_2$. (M_r 185,9). 1107000. [64-69-7].

Cristalli incolori o bianchi, solubili in acqua e in alcool.

p.f.: da 82 °C a 83 °C.

Acido 2-iodobenzoico. $C_7H_5IO_2$. (M_r 248,0). 1046100. [88-67-5].

Polvere cristallina bianca o leggermente gialla, poco solubile in acqua, solubile in alcool.

p.f.: circa 160 °C.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *cellulosa per cromatografia F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento. Deporre sulla lastra 20 µl di una soluzione di acido 2-iodobenzoico, preparato disciogliendo 40 mg in 4 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e diluendo a 10 ml con *acqua R*. Eluire per un percorso di circa 12 cm usando come fase mobile lo strato

superiore ottenuto per agitazione di 20 volumi di *acqua R*, 40 volumi di *acido acetico glaciale R* e 40 volumi di *toluene R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria e esaminare a luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Acido 2-iodoipurico. $C_9H_8INO_3 \cdot 2H_2O$. (M_r 341,1). 1046200. [147-58-0]. Acido 2-(2-iodobenzammido)acetico diidrato.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, moderatamente solubile in acqua.

p.f.: circa 170 °C.

Acqua (2.5.12). Dal 9 per cento al 13 per cento, determinata su 1,000 g.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *cellulosa per cromatografia F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento. Deporre sulla lastra 20 µl di una soluzione di acido 2-iodoipurico, preparata disciogliendo 40 mg in 4 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e diluendo a 10 ml con *acqua R*. Eluire per un percorso di circa 12 cm usando come fase mobile lo strato superiore ottenuto per agitazione di 20 volumi di *acqua R*, 40 volumi di *acido acetico glaciale R* e 40 volumi di *toluene R*. Lasciar asciugare la lastra all'aria e esaminare a luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Acido lattico. 1047800. [50-21-5]. Vedere la monografia *Acido lattico* (0458).

Acido lattobionico. $C_{12}H_{22}O_{12}$. (M_r 358,3). 1101600. [96-82-2].

Polvere cristallina bianca, molto solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool.

p.f.: circa 115 °C.

Acido linoleico. $C_{18}H_{32}O_2$. (M_r 280,5). 1143200. [60-33-3]. Acido (9Z,12Z)-ottadeca-9,12-dienoico.

Liquido oleoso, incolore.

d_4^{20} : 0,903 circa.

n_D^{20} : 1,470 circa.

L'acido linoleico utilizzato nella determinazione quantitativa degli acidi grassi totali nella monografia Sabal frutto (1848) soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Sabal frutto (1848)*.

Il contenuto di acido linoleico non è inferiore al 98 per cento, calcolato mediante procedura di normalizzazione.

Acido linolenico. $C_{18}H_{30}O_2$. (M_r 278,4). 1143300. [463-40-1]. Acido (9Z,12Z,15Z)-ottadeca-9,12,15-trienoico.

Liquido incolore, praticamente insolubile in acqua, solubile in solventi organici.

d_4^{20} : 0,915 circa.

n_D^{20} : 1,480 circa.

L'acido linolenico utilizzato nella determinazione quantitativa degli acidi grassi totali nella monografia Sabal frutto (1848) soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Sabal frutto (1848)*.

Il contenuto di acido linolenico non è inferiore al 98 per cento, calcolato mediante procedura di normalizzazione.

Acido maleico. 1050600. [110-16-7]. Acido Z-butenodioico. Vedere la monografia *Acido maleico (0365)*.

Acido metacrilico. $C_4H_6O_2$. (M_r 86,1). 1101800. [79-41-4]. Acido 2-metil-2-propenoico.

Liquido incolore.

n_D^{20} : circa 1,431.

p.e.: circa 160 °C.

p.f.: circa 16 °C.

Acido metafosforico. $(HPO_3)_x$. 1053000. [37267-86-0].

Grumi o bastoncini di aspetto vitreo contenenti una certa proporzione di sodio metafosfato, igroscopici, solubilissimi in acqua.

Nitrati. Bollire 1,0 g con 10 ml di *acqua R*, raffreddare, aggiungere 1 ml di *carminio indaco soluzione R*, 10 ml di *acido solforico esente da azoto R* e scaldare fino all'ebollizione. La colorazione blu non svanisce completamente.

Sostanze riducenti. Non più dello 0,01 per cento, calcolato come H_3PO_3 . Disciogliere 35,0 g in 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *acido solforico R*, 50 mg di *potassio bromuro R* e 5,0 ml di *potassio bromato 0,02 M* e scaldare a b.m. per 30 min. Lasciar raffreddare e aggiungere 0,5 g di *potassio ioduro R*. Titolare lo iodio liberatosi con *sodio tiosolfato 0,1 M*, usando 1 ml di *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *potassio bromato 0,02 M* equivale a 4,10 mg di H_3PO_3 .

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Acido metansolfonico. CH_4O_3S . (M_r 96,1). 1053100. [75-75-2].

Liquido incolore, limpido, che solidifica a circa 20 °C, miscibile con acqua, poco solubile in toluene, praticamente insolubile in esano.

d_{20}^{20} : circa 1,48.

n_D^{20} : circa 1,430.

Acido metossifenilacetico. $C_9H_{10}O_3$. (M_r 166,2). 1053600. [7021-09-2]. Acido (RS)-2-Metossi-2-fenilacetico.

Polvere bianca cristallina o cristalli bianchi o quasi bianchi, moderatamente solubili in acqua, molto solubili in alcool e in etere.

p.f.: circa 70 °C.

Conservare in un luogo fresco.

Acido nicotnico. 1158600. [59-67-7].

Vedere la monografia *Acido nicotnico (0459)*.

Acido nitrico. HNO_3 . (M_r 63,0). 1058400. [7697-37-2]. Contiene non meno del 63,0 per cento *m/m* e non più del 70,0 per cento *m/m* di HNO_3 .

Liquido incolore o quasi incolore, limpido, miscibile con acqua.

d_{20}^{20} : da 1,384 a 1,416.

Una soluzione 10 g/l è fortemente acida e dà la reazione caratteristica dei nitrati (2.3.1).

Aspetto. L'acido nitrico è limpido (2.2.1) e non più intensamente colorato della soluzione di riferimento G_6 (*Metodo II*, 2.2.2).

Cloruri (2.4.4). A 5 g aggiungere 10 ml di *acqua R* e 0,3 ml di *argento nitrato soluzione R2* e lasciare a riposo per 2 min proteggendo dalla luce. Un'eventuale opalescenza non è più intensa di quella di una soluzione di riferimento preparata nello stesso modo usando 13 ml di *acqua R*, 0,5 ml di *acido nitrico R*, 0,5 ml di *soluzione standard di cloruro (Cl 5 ppm) R* e 0,3 ml di *argento nitrato soluzione R2 (0,5 ppm)*.

Solfati (2.4.13). Evaporare a secco 10 g con 0,2 g di *sodio carbonato R*. Disciogliere il residuo in 15 ml di *acqua distillata R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per i solfati (2 ppm). Preparare la soluzione di riferimento usando una miscela di 2 ml di *soluzione standard di solfato (SO₄ 10 ppm) R* e 13 ml di *acqua distillata R*.

Arsenico (2.4.2). Scaldare gradualmente 50 g con 0,5 ml di *acido solforico R* fino a sviluppo di fumi bianchi. Aggiungere al residuo 1 ml di una soluzione (100 g/l) di *idrossilammina cloridrato R* e diluire a 2 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite A per l'arsenico (0,02 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando 1,0 ml di *soluzione standard di arsenico (As 1 ppm) R*.

Metalli pesanti (2.4.8). Diluire 10 ml della soluzione preparata per il saggio limite per il ferro a 20 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (2 ppm). Preparare la soluzione di riferimento usando la *soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm) R*.

Ferro (2.4.9). Disciogliere il residuo ottenuto nella determinazione delle ceneri solforiche in 1 ml di *acido*

cloridrico diluito R e diluire a 50 ml con *acqua R*. 5 ml della soluzione, diluiti a 10 ml con *acqua R*, soddisfano al saggio limite per il ferro (1 ppm).

Ceneri solforiche. Evaporare a secco, con cautela, 100 g della sostanza in esame. Inumidire il residuo con qualche goccia di *acido solforico R* e scaldare fino al rosso scuro. Il residuo non supera lo 0,001 per cento.

Determinazione quantitativa. A 1,50 g aggiungere circa 50 ml di *acqua R* e titolare con *sodio idrossido 1 M*, usando 0,1 ml di *rosso metile soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 63,0 mg di HNO_3 . Conservare al riparo dalla luce.

Acido nitrico diluito. 1058402.

Contiene circa 125 g/l di HNO_3 (M_r 63,0).

Diluire 20 g di *acido nitrico R* a 100 ml con *acqua R*.

Acido nitrico esente da cadmio e da piombo. 1058401.

Soddisfa ai requisiti prescritti per l'*acido nitrico R* e agli ulteriori saggi seguenti:

Soluzione in esame. A 100 g aggiungere 0,1 g di *sodio carbonato anidro R* e evaporare a secco. Disciogliere il residuo con *acqua R* scaldando leggermente e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Cadmio. Non più di 0,1 ppm di cadmio (Cd) determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo II*, 2.2.23) misurando l'assorbanza a 228,8 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al cadmio ed una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Piombo. Non più di 0,1 ppm di piombo (Pb) determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo II*, 2.2.23) misurando l'assorbanza a 283,3 nm o a 217,0 nm usando una lampada a catodo cavo al piombo ed una fiamma aria-acetilene.

Acido nitrico esente da piombo. 1058403.

Soddisfa ai requisiti prescritti per l'*acido nitrico R* e all'ulteriore saggio seguente:

A 100 g aggiungere 0,1 g di *sodio carbonato anidro R* e evaporare a secco. Disciogliere il residuo in *acqua R*, scaldando leggermente, e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Determinare il contenuto di piombo mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo II*, 2.2.23) misurando l'assorbanza a 283,3 nm o a 217,0 nm usando una lampada a catodo cavo al piombo ed una fiamma aria-acetilene. Contiene non più di 0,1 ppm di piombo (Pb).

Acido nitrico Pb R. Vedere: *Acido nitrico esente da piombo R*.

Acido nitrico fumante. 1058500. [52583-42-3].

Liquido leggermente giallastro, limpido, fumante a contatto con l'aria.

d_{20}^{20} : circa 1,5.

Acido nitrilotriacetico. $\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}_6$. (M_r 191,1). 1137400. [139-13-9].

Polvere cristallina bianca, praticamente insolubile in acqua e in molti solventi organici.

p.f.: circa 240 °C, con decomposizione.

Acido 4-nitrobenzoico. $\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_4$. (M_r 167,1). 1144000. [62-23-7].

Cristalli gialli.

p.f.: 240 °C circa.

Acido oleico. $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$. (M_r 282,5). 1144100. [112-80-1]. Acido (9Z)-ottadeca-9-enoico.

Liquido chiaro incolore, praticamente insolubile in acqua.

d_4^{20} : 0,891 circa.

n_D^{20} : 1,459 circa.

p.f.: tra 13 °C e 14 °C.

L'acido oleico utilizzato nella determinazione quantitativa degli acidi grassi totali nella monografia Sabal frutto (1848) soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Sabal frutto (1848)*.

Il contenuto di acido oleico non è inferiore al 98 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Acido ossalico. $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. (M_r 126,1). 1061400. [6153-56-6]. Acido etandioico diidrato.

Cristalli bianchi, solubili in acqua, molto solubili in alcool.

Acido ossalico soluzione solforica. 1061401.

Soluzione 50 g/l di *acido ossalico R* in una miscela raffreddata di uguali volumi di *acido solforico R* e di *acqua R*.

Acido palmitico. $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$. (M_r 256,4). 1061600. [57-10-3]. Acido esadecanoico.

Scaglie cristalline bianche, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in alcool a caldo.

p.f.: 63 °C circa.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Cloramfenicolo palmitato (0473)*. Il cromatogramma mostra solo una macchia principale.

L'acido palmitico utilizzato nella determinazione quantitativa degli acidi grassi totali nella monografia Sabal frutto (1848) soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Sabal frutto (1848)*.

Il contenuto di acido palmitico non è inferiore al 98 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Acido palmitoleico. $C_{16}H_{30}O_2$. (M_r 254,4). 1144400. [373-49-9]. Acido (9Z)-esadec-9-enoico.

Liquido limpido, incolore.

p.e.: 162 °C circa.

L'acido palmitoleico utilizzato nella determinazione quantitativa degli acidi grassi totali nella monografia Sabal frutto (1848) soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Sabal frutto (1848)*.

Il contenuto di acido palmitoleico non è inferiore al 98 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Acido perclorico. $HClO_4$. (M_r 100,5). 1062900. [7601-90-3].

Contiene non meno del 70,0 per cento *m/m* e non più del 73,0 per cento *m/m* di $HClO_4$.

Liquido incolore, limpido, miscibile con acqua.

d_{20}^{20} : circa 1,7.

Determinazione quantitativa. A 2,50 g aggiungere 50 ml di *acqua R* e titolare con *sodio idrossido 1 M*, usando 0,1 ml di *rosso metile soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 100,5 mg di $HClO_4$.

Acido perclorico soluzione. 1062901.

Diluire 8,5 ml di *acido perclorico R* a 100 ml con *acqua R*.

Acido periodico. H_5IO_6 (M_r 227,9). 1108900. [10450-60-9].

Cristalli molto solubili in acqua e solubili in alcool.

p.f.: circa 122 °C

Acido periodico soluzione acetica. 1063000.

Disciogliere 0,446 g di *sodio periodato R* in 2,5 ml di una soluzione al 25 per cento *V/V* di *acido solforico R*. Diluire a 100,0 ml con *acido acetico glaciale R*.

Acido picrico. $C_6H_3N_3O_7$. (M_r 229,1). 1065800. [88-89-1]. 2,4,6-Trinitrofenolo.

Prismi o pagliette gialle, solubili in acqua e in alcool.

Conservare inumidito con *acqua R*.

Acido picrico soluzione. 1065801. Trinitrofenolo soluzione.

Soluzione 10 g/l.

Acido picrico soluzione R1. 1065802.

Preparare 100 ml di una soluzione satura di *acido picrico R* e aggiungere 0,25 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*.

Acido picrico in litio carbonato soluzione alcalina. Disciogliere 0,25 g di *litio carbonato R* e 0,5 g di *acido picrico R* in 80 ml di *acqua R* calda. Raffreddare e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Acido piruvico. $C_3H_4O_3$. (M_r 88,1). 1109300. [127-17-3]. Acido 2-ossopropanoico.

Liquido giallastro, miscibile con acqua, con etanolo e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,267.

n_D^{20} : circa 1,413.

p.e.: circa 165 °C.

Acido propionico. $C_3H_6O_2$. (M_r 74,1). 1072400. [79-09-4].

Liquido oleoso, solubile in alcool e in etere, miscibile con acqua.

d_{20}^{20} : circa 0,993.

n_D^{20} : circa 1,387.

p.e.: circa 141 °C.

p.f.: circa -21 °C.

Acido ricinoleico. $C_{18}H_{34}O_2$. (M_r 298,5). 1100100. [141-22-0]. Acido 12-idrossioleico.

Liquido viscoso giallo o bruno-giallastro costituito da una miscela di acidi grassi ottenuta per idrolisi dell'olio di ricino, praticamente insolubile in acqua, solubilissimo in etanolo, solubile in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,942.

n_D^{20} : circa 1,472.

p.f.: circa 285 °C, con decomposizione.

Acido rosmarinico. $C_{18}H_{16}O_8$. (M_r 360,3). 1138300. [20283-92-5].

p.f.: da 170 °C a 174 °C.

Acido salicilico. 1075600. [69-72-7]. Vedere la monografia *Acido salicilico (0366)*.

Acido selenioso. H_2SeO_3 . (M_r 129,0). 1100200. [7783-00-8].

Cristalli deliquescenti, molto solubili in acqua.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Acido sialico. 1001100. [131-48-6]. Vedere *acido N-acetilneuramminico R*.

Acido silicotungstico. $H_4SiW_{12}O_{40} \cdot xH_2O$. 1078000. [11130-20-4].

Cristalli bianchi o bianco-giallastri, deliquescenti, solubilissimi in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Acido solfamminico. $\text{H}_3\text{NO}_3\text{S}$. (M_r 97,1). 1085900. [5329-14-6].

Polvere cristallina o cristalli bianchi, molto solubili in acqua, moderatamente solubili in acetone, in alcool e in metanolo, praticamente insolubili in etere.

p.f.: circa 205 °C, con decomposizione

Acido solfanilico. $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$. (M_r 173,2). 1086200. [121-57-3]. Acido 4-amminobenzenosolfonico.

Cristalli incolori, moderatamente solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Acido solfanilico soluzione. 1086203.

Dissolvere 0,33 g di *acido solfanilico R* in 75 ml di *acqua R*, scaldando dolcemente se necessario e diluire a 100 ml con *acido acetico glaciale R*.

Acido solfanilico soluzione R1. 1086201.

Disciogliere 0,5 g di *acido solfanilico R* in una miscela di 75 ml di *acido acetico diluito R* e 75 ml di *acqua R*.

Acido solfanilico diazotato soluzione. 1086202.

Disciogliere, scaldando, 0,9 g di *acido solfanilico R* in 9 ml di *acido cloridrico R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Raffreddare 10 ml di questa soluzione in acqua ghiacciata ed aggiungere 10 ml di una soluzione ghiacciata al 4,5 per cento *m/V* di *sodio nitrito R*. Lasciare a riposo a 0 °C per 15 min (se conservato a questa temperatura, la soluzione è stabile per 3 giorni) e immediatamente prima dell'uso aggiungere 20 ml di una soluzione al 10 per cento *m/V* di *sodio carbonato R*.

Acido solfanilico diazotato soluzione R1. Vedere *acido diazobenzenosolfonico soluzione R1*.

Acido solfidrico. H_2S . (M_r 34,08). 1044000. [7783-06-4].

Gas, poco solubile in acqua.

Acido solfidrico R1. H_2S . (M_r 34,08). 1106600.

Contiene non meno del 99,7 per cento *V/V* di H_2S .

Acido solfidrico soluzione. Idrogeno solfuro soluzione, acqua solfidrica.

Soluzione, preparata di recente, di *idrogeno solfuro R* in *acqua R*. Contiene lo 0,4-0,5 per cento di H_2S .

Acido solforico. H_2SO_4 . (M_r 98,1). 1086800. [7664-93-9].

Contiene non meno del 95,0 per cento *m/m* e non più del 97,0 per cento *m/m* di H_2SO_4 .

Liquido caustico di consistenza oleosa, incolore, molto igroscopico, miscibile con acqua e con alcool con sviluppo di intenso calore.

d_{20}^{20} : da 1,834 a 1,837.

Una soluzione 10 g/l è fortemente acida e dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).

Aspetto. E' limpido (2.2.1) ed incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

Sostanze ossidabili. Versare cautamente 20 g, raffreddando, in 40 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,5 ml di *potassio permanganato 0,002 M*. La colorazione violetta persiste per almeno 5 min.

Cloruri. Versare 10 g, cautamente e raffreddando, in 10 ml di *acqua R* e dopo aver raffreddato diluire a 20 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 0,5 ml di *argento nitrato soluzione R2*. Lasciare a riposo per 2 min al riparo dalla luce viva. La soluzione non è più opalescente di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente usando una miscela di 1 ml di *soluzione standard di cloruro (Cl 5 ppm) R*, 19 ml di *acqua R* e 0,5 ml di *argento nitrato soluzione R2* (0,5 ppm).

Nitrati. Versare 50 g o 27,2 ml, cautamente e raffreddando, in 15 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,2 ml di una soluzione (50 g/l) di *brucina R* in *acido acetico glaciale R*, preparata di recente. Dopo 5 min un'eventuale colorazione non è più intensa di quella di una miscela di riferimento preparata nello stesso modo e contenente 12,5 ml di *acqua R*, 50 g di *acido solforico esente da azoto R*, 2,5 ml di *soluzione standard di nitrato (NO₃ 10 ppm) R* e 0,2 ml di una soluzione (50 g/l) di *brucina R* in *acido acetico glaciale R* (0,5 ppm).

Ammonio. Versare cautamente 2,5 g in *acqua R*, raffreddando, e diluire a 20 ml con lo stesso solvente. Raffreddare e aggiungere goccia a goccia 10 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio idrossido R*, seguiti da 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*. La colorazione della soluzione non è più intensa di quella di una miscela di 5 ml della *soluzione standard di ammonio (NH₄ 1 ppm) R*, 15 ml di *acqua R*, 10 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio idrossido R* e 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R* (2 ppm).

Arsenico (2.4.2). A 50 g aggiungere 3 ml di *acido nitrico R* e evaporare cautamente finché il volume si riduce a circa 10 ml. Lasciar raffreddare, aggiungere al residuo 20 ml di *acqua R* e concentrare a 5 ml. La soluzione soddisfa al saggio limite A per l'arsenico (0,02 ppm). Preparare la soluzione di riferimento usando 1,0 ml di *soluzione standard di arsenico (As 1 ppm) R*.

Metalli pesanti (2.4.8). Diluire 10 ml della soluzione ottenuta con il saggio per il ferro a 20 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (2 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm) R*.

Ferro (2.4.9). Disciogliere il residuo ottenuto dalla calcinazione, scaldando leggermente, in 1 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 50,0 ml con *acqua R*. 5 ml della soluzione, diluiti a 10 ml con *acqua R*, soddisfano al saggio limite per il ferro (1 ppm).

Residuo alla calcinazione. Non superiore allo 0,001 per cento, determinato su 100 g per cauta evaporazione in un piccolo crogiolo, su fiamma diretta e calcinazione al rosso del residuo.

Determinazione quantitativa. Pesare accuratamente una beuta con tappo a smeriglio contenente 30 ml di *acqua R*, introdurre 0,8 ml dell'acido solforico, raffreddare e pesare di nuovo. Titolare con *sodio idrossido 1 M*, usando 0,1 ml di *rosso metile soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 49,04 mg di H_2SO_4 .

Conservare in un recipiente con tappo a smeriglio di vetro o di altro materiale inerte.

Acido solforico alcoolico 0,25 M. 1086802.

Diluire 10 ml di *acido solforico alcoolico 2,5 M R* a 100 ml con *etanolo R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Acido solforico alcoolico 2,5 M. 1086801.

Aggiungere, cautamente agitando e raffreddando costantemente, 14 ml di *acido solforico R* in 60 ml di *etanolo R*. Lasciare raffreddare e diluire a 100 ml con *etanolo R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Acido solforico diluito. 1086804.

Contiene 98 g/l di H_2SO_4 .

Aggiungere 5,5 ml di *acido solforico R* a 60 ml di *acqua R*, lasciare raffreddare e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Determinazione quantitativa. In una beuta con tappo a smeriglio contenente 30 ml di *acqua R*, introdurre 10,0 ml dell'acido solforico diluito. Titolare con *sodio idrossido 1 M*, usando 0,1 ml di *rosso metile soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 49,04 mg di H_2SO_4 .

Acido solforico e formaldeide reattivo. 1086805.

Mescolare 2 ml di *formaldeide soluzione R* con 100 ml di *acido solforico R*.

Acido solforico esente da azoto. 1086806.

Soddisfa ai requisiti prescritti per l'*acido solforico R* e all'ulteriore saggio seguente:

Nitrati. A 5 ml di *acqua R* aggiungere cautamente 45 ml dell'acido solforico, lasciare raffreddare a 40 °C e aggiungere 8 mg di *difenilbenzidina R*. La soluzione è debolmente rosata o blu molto chiaro.

Acido solforico soluzione alcoolica. 1086803.

Aggiungere, cautamente agitando e raffreddando costantemente, 20 ml di *acido solforico R* in 60 ml di *alcool R*. Lasciar raffreddare e diluire a 100 ml con *alcool R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Acido solforoso soluzione. SO_2 (M_r 64,1).

Soluzione acquosa contenente il 5 per cento di SO_2 . d_{20}^{20} : circa 1,03.

Usare una soluzione preparata di recente e conservare in un luogo fresco.

Acido solfosalicilico. $C_7H_6O_6S \cdot 2H_2O$. (M_r 254,2). 1086600. [5965-83-3]. Acido 2-idrossi-5-solfobenzoico diidrato.

Polvere cristallina o cristalli, bianchi, solubilissimi in acqua e in alcool, solubili in etere.

p.f.: circa 109 °C.

Acido stearico. $C_{18}H_{36}O$. (M_r 284,5). 1085200. [57-11-4]. Acido ottadecanoico.

Polvere bianca o fiocchi, untuosi al tatto, praticamente insolubili in acqua, solubili in alcool caldo e in etere.

p.f.: circa 70 °C.

Acido succinico. $C_4H_6O_4$. (M_r 118,1). 1085600. [110-15-6]. Acido butandioico.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, solubili in acqua e in alcool.

p.f.: da 184 °C a 187 °C.

Acido tannico. 1087100. [1401-55-4].

Scaglie lucenti da giallastre a marrone chiaro o polvere amorfa, solubilissime in acqua, molto solubili in alcool, solubili in acetone, praticamente insolubili in etere.

Conservare al riparo dalla luce.

Acido tartarico. 1087200. [87-69-4]. Vedere la monografia *Acido tartarico* (0460).

Acido tetracos-15-enoico, estere metilico. $C_{25}H_{48}O_2$. (M_r 380,7). 1144800. [2733-88-2]. Acido 15-tetracosanoico estere metilico.

Metile tetracos-15-enoato. Acido nervonico estere metilico.

Contenuto: non inferiore al 99,0 per cento di $C_{25}H_{48}O_2$, determinato mediante gas cromatografia.

Liquido.

Acido 2-(2-tienil)acetico. $C_6H_6O_2S$. (M_r 142,1). 1089500. [1918-77-0].

Polvere bruna.

p.f.: circa 65 °C.

Acido tiobarbiturico. $C_4H_4N_2O_2S$. (M_r 144,2). 1111200. [504-17-6]. 4,6-Diidrossi-2-sulfanilpirimidina.

Acido tioglicolico. $C_2H_4O_2S$. (M_r 92,1). 1089700. [68-11-1]. Acido 2-mercaptoacetico.

Liquido incolore, miscibile con acqua, solubile in alcool.

Acido toluensolfonico. $C_7H_8O_3S.H_2O$. (M_r 190,2). 1091600. [6192-52-5]. Acido *p*-toluensolfonico, Acido 4-metilbenzensolfonico monoidrato.

Contiene non meno dell'87,0 per cento di $C_7H_8O_3S$.

Polvere cristallina o cristalli, bianchi, molto solubili in acqua, solubili in alcool e in etere.

Acido toluensolfonico 0,005 M. Disciogliere 0,951 g di *acido toluensolfonico R* in *diossano R* contenente 10 g/l di *fenolo R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Acido tricloroacetico. $C_2HCl_3O_2$. (M_r 163,4). 1092500. [76-03-9].

Cristalli incolori o massa cristallina, molto deliquescenti, solubilissimi in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Acido tricloroacetico soluzione. 1092501.

Disciogliere 40,0 di *acido tricloroacetico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Verificare la concentrazione mediante titolazione con *sodio idrossido 0,1 M* e correggere se necessario a 40 ± 1 g/l.

Acido trifluoroacetico. $C_2HF_3O_2$. (M_r 114,0). 1093200. [76-05-1].

Contiene non meno del 99 per cento di $C_2HF_3O_2$.

Liquido, miscibile con acetone, con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,53.

p.e.: circa 72 °C.

Usare una qualità idonea per la determinazione della sequenza nelle proteine.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Acido 2,4,6-trinitrobenzensolfonico. $C_6H_3N_3O_9S.3H_2O$. (M_r 347,2). 1117500. [2508-19-2].

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua.

p.f.: da 190 °C a 195 °C.

Acido ursolico. $C_{30}H_{48}O_3$. (M_r 456,7). 1141600. [77-52-1]. Acido (3 β)-3-idrossiurs-12-en-28-oico.

Polvere bianca, praticamente insolubile in acqua, moderatamente solubile in metanolo, debolmente solubile in alcool.

$[\alpha]_D^{20}$: circa 67,50 (soluzione 10 g/l in una soluzione 56,1 g/l di *potassio idrossido R* in *alcool R*).

p.f.: da 285 °C a 288 °C.

Acido valerenico. $C_{15}H_{22}O_2$. (M_r 234,3). Acido (*E*)-3-(4*S*,7*R*,7*aR*)-3,7-dimetil-2,4,5,6,7,7*a*-esaidro-1*H*-inden-4-il-2-metil-2-propenoico.

Polvere bianca o beige, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool, in diclorometano e in etere.

p.f.: da 135 °C a 139 °C (misurato in un tubo capillare).

Assorbanza. (2.2.25). La soluzione in *alcool R* presenta un massimo di assorbimento a 214 nm. Determinata a questo massimo, l'assorbanza specifica è circa 14900.

Acido valeriano. $C_5H_{10}O_2$. (M_r 102,1). 1095200. [109-52-4]. Acido pentanoico. Acido valerico.

Liquido incolore, solubile in acqua, molto solubile in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,94.

n_D^{20} : circa 1,409.

p.e.: circa 186 °C.

Acqua. 1095500. [7732-18-5]. Vedere la monografia *Acqua depurata (0008)*.

Acqua distillata. 1095504. [7732-18-5].

Acqua R preparata per distillazione.

Acqua esente da ammonio. 1095501. [7732-18-5].

A 100 ml di *acqua R* aggiungere 0,1 ml di *acido solforico R*. Distillare usando l'apparecchiatura descritta per la determinazione dell'intervallo di distillazione (2.2.11). Scartare i primi 10 ml e raccogliere i successivi 50 ml.

Acqua esente da anidride carbonica. 1095502. [7732-18-5].

Acqua R bollita per qualche minuto e protetta dall'atmosfera durante il raffreddamento e la conservazione.

Acqua esente da nitrato. 1095506. [7732-18-5].

A 100 ml di *acqua R* aggiungere qualche milligrammo di *potassio permanganato R* e di *bario idrossido R*. Distillare usando l'apparecchiatura descritta per la determinazione dell'intervallo di distillazione (2.2.11). Scartare i primi 10 ml e raccogliere i successivi 50 ml.

Acqua esente da particelle. 1095507. [7732-18-5]

Filtrare *acqua R* su una membrana con porosità di 0,22 μ m.

Acqua per cromatografia. 1095503. [7732-18-5].

Acqua R deionizzata con una resistività non inferiore a 0,18 Mohm-m.

Acqua per preparazioni iniettabili. 1095505. [7732-18-5]. Vedere la monografia *Acqua per preparazioni iniettabili (0169)*.

Acqua di barite. Vedere *bario idrossido soluzione R*.

Acqua di bromo. 1012402.

Agitare 3 ml di *bromo R* con 100 ml di *acqua R* fino a saturazione.

Conservare sopra un eccesso di *bromo R*, al riparo dalla luce.

Acqua di bromo R1. 1012403.

Agitare 0,5 ml di *bromo R* con 100 ml di *acqua R*.
Conservare al riparo dalla luce non più a lungo di una settimana.

Acqua di calce. Vedere *calcio idrossido soluzione R*.

Acqua ossigenata. Vedere *idrogeno perossido R*.

Acrilammide. C₃H₅NO. (M_r 71,1). 1001500. [79-06-1].
Propenamamide.

Fiocchi incolori o bianchi o polvere cristallina bianca o quasi bianca, solubilissimi in acqua e in metanolo, molto solubili in etanolo.

p.f.: circa 84 °C.

Acrilammide 30 per cento/bisacrilammide (29:1) soluzione. 1001501.

Preparare una soluzione contenente 290 g di *acrilammide R* e 10 g di *metilenbisacrilammide R* per litro di *acqua R*. Filtrare.

Acrilammide 30 per cento/bisacrilammide (36,5:1) soluzione. 1001502.

Preparare una soluzione contenente 292 g di *acrilammide R* e 8 g di *metilenbisacrilammide R* per litro di *acqua R*. Filtrare.

Adenosina. C₁₀H₁₃N₅O₄. (M_r 267,2). 1001600. [58-61-7].
6-Ammino-9-β-D-ribofuranosil-9H-purina.

Polvere cristallina bianca, poco solubile in acqua, praticamente insolubile in acetone, in alcool e in etere. Si scioglie nelle soluzioni diluite di acidi.

p.f.: circa 234 °C.

Agar. Vedere la monografia *Agar (0310)*.

Agarosio per cromatografia. 1001800. [9012-36-6].

Granuli rigonfi con diametro di 60-140 μm, disponibili come sospensione al 4 per cento in *acqua R*. Utilizzato in cromatografia per esclusione per la separazione di proteine con masse molecolari relative comprese tra 6×10⁴ e 20×10⁶ e di polisaccaridi con masse molecolari relative comprese tra 3×10³ e 5×10⁶.

Agarosio-DEAE per cromatografia a scambio ionico. 1002100. [57407-08-6].

Agarosio reticolato sostituito con gruppi dietilamminotilici; si presenta sotto forma di granuli.

Agarosio per elettroforesi. 1002000. [9012-36-6].

Polisaccaride lineare, neutro, il cui componente principale è derivato dall'agar.

Polvere bianca o quasi bianca, praticamente insolubile in acqua fredda, molto poco solubile in acqua calda.

Agarosio-poliacrilammide reticolato. 1002200.

Agarosio incluso entro una struttura poliaccrilammidica reticolata; è utilizzato per la separazione di proteine globulari con masse molecolari relative comprese tra 2×10⁴ e 35×10⁴.

Agarosio reticolato per cromatografia. 1001900. [61970-08-9].

Preparato dall'agarosio per reazione con 2,3-dibromopropanolo in condizioni fortemente alcaline.

Costituito da sfere rigonfie con diametro di 60-140 μm, si presenta come una sospensione al 4 per cento in *acqua R*. E' utilizzato in cromatografia per esclusione per la separazione di proteine con masse molecolari relative comprese tra 6×10⁴ e 20×10⁶ e di polisaccaridi con masse molecolari relative comprese tra 3×10³ e 5×10⁶.

Agarosio reticolato per cromatografia R1. 1001901. [65099-79-8].

Preparato dall'agarosio per reazione con 2,3-dibromopropanolo in condizioni fortemente alcaline.

Costituito da sfere rigonfie con diametro di 60-140 μm, si presenta come una sospensione al 4 per cento in *acqua R*. Utilizzato in cromatografia per esclusione per la separazione di proteine con masse molecolari relative comprese tra 7×10⁴ e 40×10⁶ e di polisaccaridi con masse molecolari relative comprese tra 1×10⁵ e 2×10⁷.

Alanina. 1102900. [56-41-7]. Vedere la monografia *Alanina (0752)*.

β-Alanina. 1004500. [107-95-9]. Vedere *acido 3-amminopropionico R*.

Albumina bovina. 1002300. [9048-46-8].

Albumina sierica bovina contenente il 96 per cento circa della proteina.

Polvere da bianca a bruno-giallastra chiara.

Acqua (2.5.12). Non più del 3,0 per cento, determinata su 0,800 g.

L'albumina bovina utilizzata nel dosaggio biologico del Tetracosactide è esente da pirogeni ed esente da attività proteolitica, quando esaminata mediante metodi idonei, per esempio usando un substrato cromogenico, ed esente da attività corticosteroidi determinata mediante misurazione della fluorescenza come descritto nel dosaggio biologico del Tetracosactide (0644).

Albumina umana. 1133800.

Albumina sierica umana contenente non meno del 96 per cento di albumina.

Albumina umana soluzione. 1002400. [9048-46-8]. Vedere la monografia *Albumina umana soluzione (0255)*.

Albumina umana soluzione R1. 1002401.

Diluire l'*albumina umana soluzione R* con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere una concentrazione di 1 g/l della proteina. Portare il pH a 3,5-4,5 con *acido acetico glaciale R*.

Alcool. C₂H₆O. (M_r 46,07). 1002500. [64-17-5].

Vedere *Etanolo al 96 per cento R*.

Alcool (x per cento V/V). 1002502.

Vedere *Etanolo (x per cento V/V) R*.

Alcool esente da aldeide. 1002501.

Mescolare 1200 ml di *alcool R* con 5 ml di una soluzione (400 g/l) di *argento nitrato R* e 10 ml di una soluzione (500 g/l) raffreddata di *potassio idrossido R*. Agitare, lasciare a riposo per qualche giorno e filtrare. Distillare il filtrato immediatamente prima dell'uso.

Alcool amilico terziario. Vedere *alcool tert-pentilico R*.

Alcool benzilico. 1010700. [100-51-6]. Vedere la monografia *Alcool benzilico (0256)*.

Alcool butilico normale. Vedere *butanolo R*.

Alcool butilico secondario. Vedere *2-butanolo R1*.

Alcool butilico terziario. Vedere *2-metil-2-propanolo R*.

Alcool caprico. 1024700. Vedere *decanolo R*.

Alcool cetostearilico. 1017500. [67762-27-0]. Vedere la monografia *Alcool cetostearilico (0702)*.

Alcool isoamilico. C₅H₁₂O. (M_r 88,1). 1046900. [123-51-3]. 3-Metil-1-butanolo.

Liquido incolore, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

p.e.: circa 130 °C.

Alcool isobutilico. Vedere *2-metilpropanolo R*.

Alcool isopropilico R1. Vedere *2-propanolo R1*.

Alcool laurilico. C₁₂H₂₆O. (M_r 186,3). 1119900. [112-53-8]. 1-Dodecanolo.

d_{20}^{20} : circa 0,820.

p.f.: da 24 °C a 27 °C.

Alcool metilico. Vedere *metanolo R*.

Alcool metilico anidro. Vedere *metanolo anidro R*.

Alcool miristilico. C₁₄H₃₀O. (M_r 214,4). 1121300. [112-72-1]. 1-Tetradecanolo.

d_{20}^{20} : circa 0,823.

p.f.: da 38 °C a 40 °C.

Alcool propilico normale. Vedere *propanolo R*.

Alcool tert-pentilico. C₅H₁₂O. (M_r 88,1). 1062700. [75-85-4]. Alcool *tert*-amilico. 2-Metil-2-butanolo. Amilene idrato.

Liquido infiammabile, volatile, molto solubile in acqua, miscibile con alcool, con etere e con glicerolo.

d_{20}^{20} : circa 0,81.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 100 °C e 104 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Aldeide anisica. C₈H₈O₂. (M_r 136,1). 1007300. [123-11-5]. 4-Metossibenzaldeide. Anisaldeide.

Liquido oleoso, molto poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

p.e.: circa 248 °C.

L'aldeide anisica utilizzata in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Utilizzare la sostanza in esame come soluzione in esame mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Anice essenza (0804)*.

L'area del picco principale non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Aldeide anisica soluzione. 1007301.

Mescolare, nell'ordine, 0,5 ml di *aldeide anisica R*, 10 ml di *acido acetico glaciale R*, 85 ml di *metanolo R* e 5 ml di *acido solforico R*.

Aldeide anisica soluzione R1. 1007302.

A 10 ml di *aldeide anisica R* aggiungere 90 ml di *alcool R*, mescolare, aggiungere 10 ml di *acido solforico R* e mescolare di nuovo.

Aldeide cinnamica. C₉H₈O. (M_r 132,2). 1020700. [104-55-2]. 3-Fenilpropenale.

Liquido oleoso da giallastro a giallo-verdastro, poco solubile in acqua, solubilissimo in alcool.

d_{20}^{20} : da 1,048 a 1,051.

n_D^{20} : circa 1,620.

Conservare al riparo dalla luce.

Aldeide trans-cinnamica. C₉H₈O. (M_r 132,2). 1124600. [14371-10-9]. (E)-3-Fenil-2-propenale.

L'aldeide trans-cinnamica utilizzata in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Cannella di Cina essenza (1496)*.

Il contenuto non è inferiore al 99,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Aldeide deidrogenasi. 1103000. Enzima ottenuto dal lievito utilizzato nei panifici, che ossida l'acetaldeide ad acido acetico in presenza di nicotinammide-adenina dinucleotide, sali di potassio e tioli, a pH 8,0.

Aldeide deidrogenasi soluzione. 1103001. Disciogliere in *acqua R* una quantità di *aldeide deidrogenasi R* equivalente a 70 unità e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. La soluzione è stabile per 8 h a 4 °C.

Aldeide 4-dimetilamminocinnamica. Vedere *4-dimetilamminocinnamaldeide R*.

Aldeide formica. Vedere *formaldeide R*.

Aldeide ftalica. C₈H₆O₂. (*M_r* 134,1). 1065300. [643-79-8]. Benzen-1,2-dicarbossilaldeide.

Polvere gialla cristallina.

p.f.: circa 55 °C.

Conservare al riparo dalla luce e dall'aria.

Aldeide ftalica reattivo. 1065301.

Disciogliere 2,47 g di *acido borico R* in 75 ml di *acqua R*, portare a pH 10,4 usando una soluzione (450 g/l) di *potassio idrossido R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Disciogliere 1,0 g di *aldeide ftalica R* in 5 ml di *metanolo R*, aggiungere 95 ml della soluzione di *acido borico* e 2 ml di *acido tioglicolico R* e portare a pH 10,4 con una soluzione (450 g/l) di *potassio idrossido R*.

Conservare al riparo dalla luce e usare entro 3 giorni.

Aldeide glutarica. C₅H₈O₂. (*M_r* 100,1). 1098300. [111-30-8]. Glutaraldeide.

Liquido oleoso, solubile in acqua.

n_D²⁵: circa 1,434.

p.e.: circa 188 °C.

Aldeide propionica. C₃H₆O. (*M_r* 58,1). 1072300. [123-38-6]. Propanale.

Liquido molto solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_D²⁰: circa 0,81.

n_D²⁰: circa 1,365.

p.e.: circa 49 °C.

p.f.: circa -81 °C.

Aldeide salicilica. Vedere *salicilaldeide R*.

Aldrin. C₁₂H₈Cl₆. (*M_r* 364,9). 1123100. [309-00-2].

p.e.: circa 145 °C.

p.f.: circa 104 °C.

Può essere usata una idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Alizarina S. C₁₄H₇NaO₇S.H₂O. (*M_r* 360,3). 1002600. [130-22-3]. Schultz no. 1145. Colour Index No. 58005. Sodio 1,2-diidrossiantrachinon-3-solfonato. Sodio 9,10-diidro-3,4-diidrossi-9,10-dioxoantracen-2-solfonato monoidrato. Sodio alizarinsolfonato.

Polvere giallo-arancione, molto solubile in acqua e in alcool.

Alizarina S soluzione. 1002601. Sodio alizarinsolfonato soluzione.

Soluzione 1 g/l.

Saggio di sensibilità. Il reattivo mostra una colorazione che vira dal giallo al rosso-arancione quando viene esaminato come indicato per la standardizzazione del *bario perclorato 0,05 M (4.2.2)*.

Viraggio. Da pH 3,7 (giallo) a pH 5,2 (violetto).

Alizarina sodio solfonato. Vedere *alizarina S R*.

Allume. Vedere *alluminio e potassio solfato R*.

Allume cromico. CrK(SO₄)₂·12H₂O. (*M_r* 499,4). 1019800. [7788-99-0]. Potassio cromico solfato.

Cristalli da rosso-violetti a neri, grandi, molto solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Allume ferrico (ammonico). Vedere *ferro(-ico) ammonico solfato R*.

Alluminio. Al. (*A_r* 26,98). 1118200. [7429-90-5].

Metallo bluastrò, bianco, malleabile, flessibile, disponibile come barre, lamine, polvere, strisce o fili. In ambiente umido forma una pellicola di ossido che protegge il metallo dalla corrosione.

Grado analitico.

Alluminio cloruro. AlCl₃·6H₂O. (*M_r* 241,4). 1002700. [7784-13-6]. Alluminio cloruro esaidrato.

Contiene non meno del 98,0 per cento di AlCl₃·6H₂O. Polvere cristallina da bianca a leggermente giallastra, igroscopica, molto solubile in acqua e in alcool, solubile in etere.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Alluminio cloruro reattivo. 1002702.

Disciogliere 2,0 g di *alluminio cloruro R* in 100 ml di una soluzione al 5 per cento V/V di *acido acetico glaciale R* in *metanolo R*.

Alluminio cloruro soluzione. 1002701.

Disciogliere 65,0 g di *alluminio cloruro R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 0,5 g di *carbone attivato R*, agitare per 10 min, filtrare e aggiungere al filtrato, agitando in continuazione, una quantità di una soluzione (10 g/l) di *sodio idrossido R* sufficiente a portare il pH a circa 1,5 (circa 60 ml).

Alluminio e potassio solfato. 1003000. [7784-24-9]. Vedere la monografia *Allume (0006)*.

Alluminio nitrato. Al(NO₃)₃·9H₂O. (*M_r* 375,1). 1002800. [7784-27-2]. Alluminio nitrato nonaidrato.

Cristalli, deliquescenti, solubilissimi in acqua e alcool, molto poco solubili in acetone.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Alluminio ossido anidro. 1002900. [1344-28-1].

Alluminio ossido, costituito da γ - Al_2O_3 , deidratato e attivato per riscaldamento. La dimensione delle particelle è di 75-150 μm .

Alluminio ossido basico. 1118300.

Una forma basica di *alluminio ossido anidro R* adatto per cromatografia su colonna.

pH (2.2.3). Agitare per 5 min 1 g con 10 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della sospensione è compreso tra 9 e 10.

Alluminio ossido neutro. Al_2O_3 . (M_r 102,0). 1118400. Vedere la monografia *Alluminio ossido idrato (0311)*.

Aloina. Vedere *barbaloina R*.

Amido e potassio iodato cartina. Vedere *amido iodata cartina R*.

Amido solubile. 1085100. [9005-84-9].

Polvere bianca.

Preparare una soluzione 20 g/l in *acqua R* calda. La soluzione è al massimo leggermente opalescente e rimane fluida per raffreddamento.

Amido esente da ioduro soluzione. 1085104.

Preparare la soluzione come prescritto per l'*amido soluzione R* omettendo il mercurio(-ico) ioduro. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Amido iodata cartina. 1085101.

Immergere le strisce di carta da filtro in 100 ml di *amido esente da ioduro soluzione R* contenente 0,1 g di *potassio iodato R*. Eliminare la soluzione e lasciar essiccare proteggendo dalla luce.

Amido soluzione. 1085103. Salda d'amido.

Triturare 1,0 g di *amido solubile R* con 5 ml di *acqua R* e, continuando ad agitare, versare la miscela in 100 ml di *acqua R* bollente contenente 10 mg di *mercurio(-ico) ioduro R*.

Effettuare il saggio di sensibilità ogni volta che si usa il reattivo.

Saggio di sensibilità. Una miscela di 1 ml di amido soluzione, 20 ml di *acqua R*, circa 50 mg di *potassio ioduro R* e 0,05 ml di *iodio soluzione R1* è blu.

Amido soluzione R1. 1085105.

Mescolare 1 g di *amido solubile R* e una piccola quantità di *acqua R* fredda. Aggiungere questa miscela, agitando, a 200 ml di *acqua R* bollente. Aggiungere 250 mg di *acido salicilico R* e bollire per 3 min. Rimuovere immediatamente dal calore e raffreddare.

Se è richiesta una lunga conservazione, la soluzione dovrebbe essere conservata ad una temperatura compresa tra 4 °C e 10 °C. Dovrebbe essere preparata di recente una soluzione di amido se il punto di fine titolazione dal blu all'incolore non è netto. Se conservata in un frigorifero, la soluzione di amido è stabile per circa 2-3 settimane.

Saggio di sensibilità. Una miscela di 2 ml di *amido soluzione R1*, 20 ml di *acqua R*, circa 50 mg di *potassio ioduro R* e 0,05 ml di *iodio soluzione R1* è blu.

α -Amilasi. 1100800. 1,4- α -D-glucano-glucanoidrolasi (EC 3.2.1.1).

Polvere da bianca a marrone chiaro.

α -Amilasi soluzione. 1100801.

Soluzione di *α -amilasi R* con un'attività di 800 FAU/g.

Amile nitrito. Miscela di isomeri contenente non meno del 97,0 per cento e non più del 100,0 per cento di $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$. E' costituito principalmente da isoamile nitrito $[(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{ONO}]$, ma possono essere presenti anche altri isomeri.

Amilene idrato. Vedere *alcool tert-pentilico R*.

Amminoantipirina. Vedere *amminopirazolone R*.

Amminoazobenzene. $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_3$. (M_r 197,2). 1003200. [60-09-3]. Colour Index No. 11000. Azobenzen-4-ammina. 4-(Fenilazo)anilina.

Aghi giallo-brunastri con una sfumatura bluastra, poco solubili in acqua, molto solubili in alcool e in etere. p.f.: circa 128 °C.

Amminobutanolo. $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}$. (M_r 89,1). 1003500. [5856-63-3]. 2-Amminobutanolo.

Liquido oleoso, miscibile con acqua, solubile in alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,94.

n_D^{20} : circa 1,453.

p.e.: circa 180 °C.

Amminoclorobenzofenone. $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}$. (M_r 231,7). 1003600. [719-59-5]. 2-Ammino-5-clorobenzofenone.

Polvere gialla cristallina, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in acetone, solubile in alcool.

p.f.: circa 97 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Clordiazepossido cloridrato (0474)* deponendo 5 μl di una soluzione 0,5 g/l in *metanolo R*; il cromatogramma presenta solo una macchia principale con un R_f di circa 0,9.

Conservare al riparo dalla luce.

Amminoetile difenilborato. $C_{14}H_{16}BNO$. (M_r 225,1). 1032400. [524-95-8]. 2-(Difenilborilossi)etilammina. Reattivo di Neu.

Polvere cristallina bianca o leggermente gialla, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

p.f.: circa 193 °C.

Amminofenazone. $C_{13}H_{17}N_3O$. (M_r 231,3). 1133900. [58-15-1]. 4-(Dietilammino)-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-diidro-3H-pirazol-3-one.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, solubili in acqua, molto solubili in alcool.

p.f.: circa 108 °C.

2-Amminofenolo. C_6H_7NO . (M_r 109,1). 1147500. [95-55-6].

Cristalli dal giallo pallido al marrone che rapidamente diventano marroni, moderatamente solubili in acqua, solubili in alcool.

p.f.: circa 172 °C.

Conservare in un contenitore ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

3-Amminofenolo. C_6H_7NO . (M_r 109,1). 1147600. [591-27-5].

Cristalli dal giallo pallido al marrone, moderatamente solubili in acqua.

p.f.: circa 122 °C.

3-Amminofenolo soluzione.

Disciogliere 7,5 mg di 3-amminofenolo R in 20 ml di alcool R e diluire a 500 ml con acqua R.

Conservare al riparo dalla luce.

4-Amminofenolo. C_6H_7NO . (M_r 109,1). 1004300. [123-30-8].

Polvere cristallina, bianca o leggermente colorata, si colora per esposizione all'aria e alla luce, moderatamente solubile in acqua, solubile in etanolo.

p.f.: circa 186 °C, con decomposizione.

Conservare al riparo dalla luce.

Amminonitrobenzofenone. $C_{13}H_{10}N_2O_3$. (M_r 242,2). 1004000. [1775-95-7]. 2-Ammino-5-nitrobenzofenone.

Polvere gialla cristallina, praticamente insolubile in acqua, solubile in tetraidrofurano, poco solubile in metanolo.

p.f.: circa 160 °C.

$A_{1cm}^{1\%}$: da 690 a 720 determinata a 233 nm utilizzando una soluzione 0,01 g/l in metanolo R.

Amminopirazolone. $C_{11}H_{13}N_3O$. (M_r 203,2). 1004600. [83-07-8]. 4-Ammino-2,3-dimetil-1-fenil-5-pirazolone.

Polvere o aghi giallo chiaro, moderatamente solubili in acqua, molto solubili in alcool, poco solubili in etere.

p.f.: circa 108 °C.

Amminopirazolone soluzione. 1004601.

Soluzione 1 g/l in tampone soluzione a pH 9,0 R.

Amminopolietere. $C_{18}H_{36}N_2O_6$. (M_r 376,5). 1112500. [23978-09-8]. 4,7,13,16,21,24-esaossa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]esacosano.

p.f.: da 70 °C a 73 °C

3-Amminopropanolo. C_3H_9NO . (M_r 75,1). 1004400. [156-87-6]. 3-Ammino-1-propanolo. Propanolammina.

Liquido viscoso, incolore, limpido.

d_{20}^{20} : circa 0,99.

n_D^{20} : circa 1,461.

p.f.: circa 11 °C.

Ammoniaca concentrata. 1004700. Vedere la monografia *Ammoniaca soluzione concentrata* (0877).

Ammoniaca concentrata R1. 1004800.

Contiene non meno del 32,0 per cento *m/m* di NH_3 (M_r 17,03).

Liquido incolore limpido.

d_{20}^{20} : da 0,883 a 0,889.

Determinazione quantitativa. Pesare accuratamente una beuta con tappo a smeriglio contenente 50,0 ml di *acido cloridrico 1 M*. Introdurre 2 ml di ammoniaca concentrata e pesare di nuovo. Titolare la soluzione con *sodio idrossido 1 M*, usando 0,5 ml di *rosso metile indicatore misto R* come indicatore.

1 ml di *acido cloridrico 1 M* equivale a 17,03 mg di NH_3 .

Conservare al riparo dall'anidride carbonica atmosferica, ad una temperatura inferiore a 20 °C.

Ammoniaca. 1004701.

Contiene non meno di 170 g/l e non più di 180 g/l di NH_3 (M_r 17,03).

Diluire 67 g di *ammoniaca concentrata R* a 100 ml con *acqua R*.

d_{20}^{20} : da 0,931 a 0,934.

Se utilizzata nel saggio limite per il ferro, l'*ammoniaca R* soddisfa agli ulteriori requisiti seguenti:

Evaporare 5 ml di ammoniaca a secco a b.m., aggiungere 10 ml di *acqua R*, 2 ml di una soluzione (200 g/l) di *acido citrico R* e 0,1 ml di *acido tioglicolico R*. Alcalinizzare mediante aggiunta di *ammoniaca R* e diluire a 20 ml con *acqua R*. Non si sviluppa una colorazione rosa.

Conservare al riparo dall'anidride carbonica atmosferica, ad una temperatura inferiore a 20 °C.

Ammoniaca diluita R1. 1004702.

Contiene non meno di 100 g/l e non più di 104 g/l di NH_3 (M_r 17,03).

Diluire 41 g di *ammoniaca concentrata R* a 100 ml con *acqua R*.

Ammoniaca diluita R2. 1004703.

Contiene non meno di 33 g/l e non più di 35 g/l di NH_3 (M_r 17,03).

Diluire 14 g di *ammoniaca concentrata R* a 100 ml con *acqua R*.

Ammoniaca diluita R3. 1004704.

Contiene non meno di 1,6 g/l e non più di 1,8 g/l di NH_3 (M_r 17,03).

Diluire 0,7 g di *ammoniaca concentrata R* a 100 ml con *acqua R*.

Ammoniaca Pb R. Vedere *Ammoniaca esente da piombo R*.

Ammoniaca esente da piombo. 1004705.

Soddisfa ai requisiti prescritti per *ammoniaca diluita R1* e all'ulteriore saggio: a 20 ml di ammoniaca esente da piombo aggiungere 1 ml di *potassio cianuro soluzione esente da piombo R*, diluire a 50 ml con *acqua R* e aggiungere 0,10 ml di *sodio solfuro soluzione R*. La soluzione non è più intensamente colorata di una soluzione di riferimento preparata senza sodio solfuro.

Ammonio acetato. $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_2$. (M_r 77,1). 1004900. [631-61-8].

Cristalli incolori, molto deliquescenti, solubilissimi in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ammonio acetato soluzione. 1004901.

Disciogliere 150 g di *ammonio acetato R* in *acqua R*. Aggiungere 3 ml di *acido acetico glaciale R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Usare entro una settimana.

Ammonio bicarbonato. NH_4HCO_3 . (M_r 79,1). 1005500. [1066-33-7].

Contiene non meno del 99 per cento di NH_4HCO_3 .

(1R)-(-)-Ammonio 10-canforsolfonato. $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S}$. (M_r 249,3). 1103200.

Contiene non meno del 97,0 per cento di (1R)-(-)-ammonio 10-canforsolfonato.

$[\alpha]_D^{20}$: 18 ± 2 (soluzione 50 g/l in *acqua R*).

Ammonio carbonato. 1005200. [506-87-6]. Miscela di proporzioni variabili di ammonio bicarbonato (NH_4HCO_3 , M_r 79,1) e ammonio carbammato ($\text{NH}_2\text{COONH}_4$, M_r 78,1).

Massa bianca traslucida, lentamente solubile in circa 4 parti di acqua. Si decompone in acqua bollente. L'ammonio carbonato libera non meno del 30 per cento m/m di NH_3 (M_r 17,03).

Determinazione quantitativa. Disciogliere 2,00 g in 25 ml di *acqua R*. Aggiungere lentamente 50,0 ml di *acido cloridrico 1 M*, titolare con *sodio idrossido 1 M*, usando 0,1 ml di *metilarancio soluzione R* come indicatore.

1 ml di *acido cloridrico 1 M* equivale a 17,03 mg di NH_3 . Conservare ad una temperatura inferiore a 20 °C.

Ammonio carbonato soluzione. 1005201.

Soluzione 158 g/l.

Ammonio e cerio nitrato. Vedere *cerio e ammonio nitrato R*.

Ammonio e cerio solfato. Vedere *cerio e ammonio solfato R*.

Ammonio citrato. $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$. (M_r 226,2). 1103300. [3012-65-5]. Diammonio idrogeno citrato.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, molto solubile in acqua, poco solubile in alcool.

pH (2.2.3). Il pH della soluzione contenente 22,6 g/l è circa 4,3.

Ammonio cloruro. 1005300. [12125-02-9]. Vedere la monografia *Ammonio cloruro* (0007).

Ammonio cloruro soluzione. 1005301.

Soluzione 107 g/l.

Ammonio diidrogenofosfato. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. (M_r 115,0). 1005400. [7722-76-1]. Ammonio fosfato monobasico.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, molto solubili in acqua.

pH (2.2.3). Una soluzione 23 g/l ha un pH di circa 4,2.

Ammonio esafluorogermanato (IV). $(\text{NH}_4)_2\text{GeF}_6$. (M_r 222,7). 1134000. [16962-47-3].

Cristalli bianchi, molto solubili in acqua.

Ammonio formato. CH_5NO_2 . (M_r 63,1). 1112600. [540-69-2].

Cristalli o granuli deliquescenti, solubilissimi in acqua, solubili in alcool.

p.f.: da 119 °C a 121 °C.

Conservare in un contenitore ermeticamente chiuso.

Ammonio fosfato dibasico. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. (M_r 132,1). 1006100. [7783-28-0]. Diammonio idrogeno fosfato. Ammonio fosfato.

Cristalli o granuli, bianchi, igroscopici, solubilissimi in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Il pH di una soluzione 200 g/l è circa 8.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ammonio fosfato monobasico. Vedere *ammonio diidrogenofosfato R*.

Ammonio molibdato. $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$. (M_r 1236). 1005700. [12054-85-2].

Cristalli incolori o leggermente gialli o verdastri, solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Ammonio molibdato reattivo. 1005701.

Mescolare, nell'ordine indicato, 1 volume di una soluzione (25 g/l) di *ammonio molibdato R*, 1 volume di una soluzione (100 g/l) di *acido ascorbico R* e 1 volume di *acido solforico R* (294,5 g/l H_2SO_4). Aggiungere 2 volumi di *acqua R*.

Usare entro un giorno.

Ammonio molibdato reattivo R1. 1005706.

Mescolare 10 ml di una soluzione (60 g/l) di *sodio arseniato dibasico R*, 50 ml di *ammonio molibdato soluzione R*, 90 ml di *acido solforico diluito R* e diluire a 200 ml in *acqua R*.

Condizionare la miscela a 37 °C per 24 h, e conservare in una beuta ambrata.

Ammonio molibdato reattivo R2. 1005708.

Disciogliere 50 g di *ammonio molibdato R* in 600 ml di *acqua R*. A 250 ml di *acqua R* fredda aggiungere 150 ml di *acido solforico R* e raffreddare. Mescolare insieme le due soluzioni.

Usare entro un giorno.

Ammonio molibdato soluzione. 1005702.

Soluzione 100 g/l.

Ammonio molibdato soluzione R2. 1005703.

Disciogliere 5,0 g di *ammonio molibdato R*, riscaldando, in 30 ml di *acqua R*. Raffreddare, portare a pH 7,0 con *ammoniaca diluita R2* e diluire a 50 ml con *acqua R*.

Ammonio molibdato soluzione R3. 1005704.

Soluzione I. Disciogliere 5 g di *ammonio molibdato R* in 20 ml di *acqua R* riscaldando.

Soluzione II. Mescolare 150 ml di *alcool R* con 150 ml di *acqua R*. Aggiungere raffreddando 100 ml di *acido solforico R*.

Immediatamente prima dell'uso aggiungere 80 volumi della soluzione II a 20 volumi della soluzione I.

Ammonio molibdato soluzione R4. 1005705.

Disciogliere 1,0 g di *ammonio molibdato R* in *acqua R* e diluire a 40 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 3 ml di *acido cloridrico R* e 5 ml di *acido perclorico R* e diluire a 100 ml con *acetone R*. Conservare al riparo dalla luce e usare entro 1 mese.

Ammonio molibdato soluzione R5. 1005706.

Disciogliere 1,0 g di *ammonio molibdato R* in 40,0 ml di una soluzione al 15 per cento V/V di *acido solforico R*. Preparare la soluzione quotidianamente.

Ammonio nitrato. NH_4NO_3 . (M_r 80,0). 1005800. [6484-52-2].

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, igroscopici, solubilissimi in acqua, molto solubili in metanolo, solubili in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ammonio nitrato R1. 1005801. [6484-52-2].

Soddisfa ai requisiti prescritti per l'*ammonio nitrato R* e agli ulteriori requisiti seguenti:

Acidità. La soluzione della sostanza è debolmente acida (2.2.4).

Cloruri (2.4.4). 0,50 g soddisfano al saggio limite per i cloruri (100 ppm).

Solfati (2.4.13). 1,0 g soddisfa al saggio limite per i solfati (150 ppm).

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,05 per cento, determinate su 1,0 g.

Ammonio ossalato. $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$. (M_r 142,1). 1005900. [6009-70-7].

Cristalli incolori, solubili in acqua.

Ammonio ossalato soluzione. 1005901.

Soluzione 40 g/l.

Ammonio persolfato. $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. (M_r 228,2). 1006000. [7727-54-0].

Polvere cristallina bianca o cristalli granulari, molto solubili in acqua.

Ammonio pirrolidinditiocarbammato. $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$. (M_r 164,3). 1006200. [5108-96-3]. Ammonio 1-pirrolidinditiioformiato.

Polvere cristallina da bianco a gialla pallida, moderatamente solubile in acqua, molto poco solubile in alcool.

Conservare in una bottiglia contenente un frammento di ammonio carbonato in un sacchetto di mussola.

Ammonio reineckato. $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NCS})_4(\text{NH}_3)_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$. (M_r 354,4). 1006300. [13573-16-5]. Ammonio diamminotetrakis(isotiocianato)cromato(III) monoidrato. Sale di Reinecke.

Polvere o cristalli rossi, moderatamente solubili in acqua fredda, solubili in acqua calda e in alcool.

Ammonio reineckato soluzione. 1006301.

Soluzione 10 g/l.

Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ammonio solfamato. $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{NH}_4$. (M_r 114,1). 1006400. [7773-06-0].

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, igroscopici, solubilissimi in acqua, poco solubili in alcool.

p.f.: circa 130 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ammonio solfato. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. (M_r 132,1). 1006500. [7783-20-2].

Cristalli incolori o granuli bianchi, solubilissimi in acqua, praticamente insolubili in acetone e in alcool.

pH (2.2.3). Il pH di una soluzione 50 g/l in *acqua esente da anidride carbonica R* è compreso tra 4,5 e 6,0.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento.

Ammonio solfuro soluzione. 1123300.

Saturare 120 ml di *ammoniaca diluita R1* con *idrogeno solfuro R* ed aggiungere 80 ml di *ammoniaca diluita R1*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ammonio tiocianato. NH_4SCN . (M_r 76,1). 1006700. [1762-95-4]. Ammonio solfocianato.

Cristalli incolori, deliquescenti, solubilissimi in acqua, solubili in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ammonio tiocianato soluzione. 1006701.

Soluzione 76 g/l.

Ammonio vanadato. NH_4VO_3 . (M_r 117,0). 1006800. [7803-55-6]. Ammonio trioxovanadato(V).

Polvere cristallina da bianca a leggermente giallastra, poco solubile in acqua, solubile in *ammoniaca diluita R1*.

Ammonio vanadato soluzione. 1006801.

Disciogliere 1,2 g di *ammonio vanadato R* in 95 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con *acido solforico R*.

Amoxicillina triidrata. 1103400. Vedere la monografia *Amoxicillina triidrata* (0260).

Anetolo. $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$. (M_r 148,2). 1006900. [4180-23-8]. 1-Metossi-4-(1-propenil)benzene.

Massa bianca cristallina sino a 20-21 °C, liquido al di sopra di 23 °C, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in etanolo, solubile in etile acetato e in etere di petrolio.

n_D^{25} : circa 1,56.

p.e.: circa 230 °C.

L'anetolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Anice essenza* (0804) usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale, corrispondente al *trans*-anetolo, con un tempo di ritenzione di circa 41 min, non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

cis-Anetolo. $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$. (M_r 148,2). 1007000. (Z)-1-Metossi-4-(1-propenil)benzene.

Massa bianca cristallina sino a 20-21 °C, liquida al di sopra di 23 °C, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in etanolo, solubile in etile acetato e in etere di petrolio.

n_D^{25} : circa 1,56.

p.e.: circa 230 °C.

Il cis-anetolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Anice essenza* (0804) usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 92,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Anidride acetica. $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$. (M_r 102,1). 1000500. [108-24-7].

Contiene non meno del 97,0 per cento *m/m* di $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$. Liquido incolore limpido.

p.e.: da 136 °C a 142 °C.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 2,00 g in 50,0 ml di *sodio idrossido 1 M* in una beuta con tappo a smeriglio e bollire a ricadere per 1 h. Titolare con *acido cloridrico 1 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore. Calcolare il numero di millilitri di *sodio idrossido 1 M* necessari per 1 g (n_1). Disciogliere 2,00 g in 20 ml di *cicloesano R* in una beuta con tappo a smeriglio, raffreddare in ghiaccio e aggiungere una miscela fredda di 10 ml di *anilina R* e 20 ml di *cicloesano R*. Bollire la miscela a ricadere per 1 h, aggiungere 50,0 ml di *sodio idrossido 1 M* e agitare vigorosamente. Titolare con *acido cloridrico 1 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore. Calcolare il numero di millilitri di *sodio idrossido 1 M* necessari per 1 g (n_2). Calcolare la percentuale di $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$ dall'espressione:

$$10,2(n_1 - n_2)$$

Anidride acetica soluzione R1. 1000501.

Disciogliere 25,0 ml di *anidride acetica R* in *piridina anidra R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Conservare al riparo dalla luce e dall'aria.

Anidride acetica-acido solforico soluzione. 1000502.
Mescolare cautamente 5 ml di *anidride acetica R* con 5 ml di *acido solforico R*. Aggiungere goccia a goccia raffreddando a 50 ml di *etanolo R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Anidride arseniosa. As₂O₃. (*M_r* 197,8). 1008300. [1327-53-3]. Diarsenico triossido.

Polvere cristallina o massa bianca, poco solubile in acqua, solubile in acqua bollente.

Anidride carbonica. 1015600. [124-38-9]. Vedere la monografia *Carbonio diossido (0375)*.

Anidride carbonica R1. CO₂. (*M_r* 44,01). 1015700. Contiene non meno del 99,995 per cento *V/V* di CO₂.

Carbonio monossido: meno di 5 ppm.

Ossigeno: meno di 25 ppm.

Ossido nitrico: meno di 1 ppm.

Anidride carbonica R2. CO₂. (*M_r* 44,01). 1134500.

Contiene non meno del 99 per cento *V/V* di CO₂.

Anidride cromica. Vedere *cromo triossido R*.

Anidride fosforica. P₂O₅. (*M_r* 141,9). 1032900. [1314-56-3]. Difosforo pentossido.

Polvere bianca, amorfa, deliquescente. Si idrata in acqua con sviluppo di calore.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Anidride ftalica. C₈H₄O₃. (*M_r* 148,1). 1065700. [85-44-9]. Isobenzofuran-1,3-dione.

Contiene non meno del 99,0 per cento di C₈H₄O₃.

Fiocchi bianchi.

p.f.: da 130 °C a 132 °C.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 2,000 g in 100 ml di *acqua R* e bollire a ricadere per 30 min. Raffreddare e titolare con *sodio idrossido 1 M*, usando *fenolfaleina soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 74,05 mg di C₈H₄O₃.

Anidride ftalica soluzione. 1065701.

Disciogliere 42 g di *anidride ftalica R* in 300 ml di *piridina anidra R*. Lasciare a riposo per 16 h.

Conservare al riparo dalla luce e usare entro una settimana.

Anidride iodica ricristallizzata. I₂O₅. (*M_r* 333,8). 1046000. [12029-98-0]. Diiodio pentossido. Anidride iodica.

Contiene non meno del 99,5 per cento di I₂O₅.

Polvere cristallina bianca o granuli bianchi o biancogriastri, igroscopici, solubilissimi in acqua con formazione di HIO₃.

Stabilità al riscaldamento. Disciogliere 2 g, previamente essiccati per 1 h a 200 °C, in 50 ml di *acqua R*. La soluzione è incolore.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 0,100 g in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* e 10 ml di *acido cloridrico diluito R*. Titolare lo iodio liberato con *sodio tiosolfato 0,1 M*, utilizzando 1 ml di *amido soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 2,782 mg di I₂O₅.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Anidride maleica. C₄H₂O₃. (*M_r* 98,1). 1050700. [108-31-6]. 2,5-Furandione. Anidride butendioica.

Cristalli bianchi, solubili in acqua formando acido maleico, solubilissimi in acetone e in etile acetato, molto solubili in toluene, solubili in alcool con formazione dell'estere, molto poco solubili in etere di petrolio.

p.f.: circa 52 °C.

Un eventuale residuo insolubile in toluene non supera il 5 per cento (acido maleico).

Anidride maleica soluzione. 1050701.

Disciogliere 5 g di *anidride maleica R* in *toluene R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Utilizzare entro un mese. Se la soluzione diventa torbida, filtrare.

Anidride propionica. C₆H₁₀O₃. (*M_r* 130,1). 1072500. [123-62-6].

Liquido incolore limpido, solubile in alcool e in etere.

*d*₂₀²⁰: circa 1,01.

p.e.: circa 167 °C.

Anidride propionica reattivo. 1072501.

Disciogliere 1 g di *acido toluensolfonico R* in 30 ml di *acido acetico glaciale R*. Aggiungere 5 ml di *anidride propionica R* e lasciare a riposo per almeno 15 min prima dell'uso.

Usare entro 24 h dalla preparazione.

Anidride solforosa. SO₂. (*M_r* 64,1). 1086700. [7446-09-5]. Zolfo diossido.

Gas incolore. Quando è compresso è un liquido incolore.

Anidride solforosa R1. SO₂. (*M_r* 64,1). 1110900.

Contiene non meno del 99,9 per cento *V/V* di SO₂.

Anidride trifluoroacetica. C₄F₆O₃. (*M_r* 210,0). 1093300. [407-25-0].

Liquido incolore.

*d*₂₀²⁰: circa 1,5.

Anidride vanadica. Vedere *divanadio pentossido R*.

Anilina. C₆H₇N. (M_r 93,1). 1007100. [62-53-3]. Benzenammina.

Liquido incolore o leggermente giallastro, solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,02.

p.e.: da 183 °C a 186 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Anisaldeide. Vedere *aldeide anisica R*.

***p*-Anisidina.** C₇H₉NO. (M_r 123,2). 1103500. [104-94-9]. 4-Metossianilina.

Cristalli bianchi, moderatamente solubili in acqua, solubili in etanolo.

Contiene non meno del 97,0 per cento di C₇H₉NO.

Attenzione: irritante per la pelle, sensibilizzante.

Conservare al riparo dalla luce ad una temperatura compresa tra 0 °C e 4 °C.

Durante la conservazione, la *p*-anisidina tende a scurirsi in seguito a ossidazione. Un reattivo di colore anomalo può essere ridotto e decolorato nel seguente modo: disciogliere 20 g di *p*-anisidina *R* in 500 ml di acqua *R* a 75 °C. Aggiungere 1 g di sodio solfito *R* e 10 g di carbone attivato *R* e agitare per 5 min. Filtrare, raffreddare il filtrato a circa 0 °C e lasciare a riposo a questa temperatura per almeno 4 h. Filtrare, lavare i cristalli con una piccola quantità di acqua *R* a circa 0 °C e asciugare i cristalli sotto vuoto su anidride fosforica *R*.

Anolita per focalizzazione isoelettrica a pH da 3 a 5. 1112800. Acido glutammico 0,1 M, acido fosforico 0,5 M.

Disciogliere 14,71 g di acido glutammico *R* in acqua *R*. Aggiungere 33 ml di acido fosforico *R* e diluire a 1000 ml con acqua *R*.

Antimonio tricloruro. SbCl₃. (M_r 228,1). 1007700. [10025-91-9].

Cristalli incolori o massa cristallina trasparente, igroscopici, molto solubili in etanolo. L'antimonio tricloruro si idrolizza in acqua.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dall'umidità.

Antimonio tricloruro soluzione. 1007701.

Lavare rapidamente 30 g di antimonio tricloruro *R* con due porzioni, da 15 ml ciascuna, di cloroformio esente da etanolo *R*, eliminare i lavaggi e disciogliere immediatamente i cristalli lavati in 100 ml di cloroformio esente da etanolo *R*, riscaldando leggermente.

Conservare la soluzione su qualche grammo di sodio solfato anidro *R*.

Antimonio tricloruro soluzione R1. 1007702.

Soluzione I. Disciogliere 110 g di antimonio tricloruro *R* in 400 ml di dicloroetano *R*. Aggiungere 2 g

di alluminio ossido anidro *R*, mescolare e filtrare su un filtro di vetro sinterizzato (40). Diluire a 500,0 ml con dicloroetano *R* e mescolare. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione, determinata a 500 nm in una cella di 2 cm, non è maggiore di 0,07.

Soluzione II. Sotto cappa, mescolare 100 ml di acetile cloruro *R* distillato di recente e 400 ml di dicloroetano *R* e conservare in un luogo fresco.

Mescolare 90 ml della soluzione I e 10 ml della soluzione II.

Conservare in una bottiglia scura con tappo a smeriglio e usare entro 7 giorni; eliminare il reattivo nel quale si sviluppi una colorazione.

Antitrombina III. 1007800. [90170-80-2].

L'antitrombina III è ottenuta dal plasma umano e purificata mediante cromatografia su eparina agarosio e deve avere un'attività specifica di almeno 6 U.I. per milligrammo.

Antitrombina III soluzione R1. 1007801.

Ricostituire l'antitrombina III *R* seguendo le direttive del produttore e diluire a 1 U.I. per millilitro con tampone tris(idrossimetil) amminometanosodio cloruro soluzione a pH 7,4 *R*.

Antitrombina III soluzione R2. 1007802.

Ricostituire l'antitrombina III *R* seguendo le direttive del produttore e diluire a 0,5 U.I. per millilitro con tampone tris(idrossimetil) amminometanosodio cloruro soluzione a pH 7,4 *R*.

Antracene. C₁₄H₁₀. (M_r 178,2). 1007400. [120-12-7].

Polvere cristallina bianca, praticamente insolubile in acqua, poco solubile in cloroformio.

p.f.: circa 218 °C.

Antrone. C₁₄H₁₀O. (M_r 194,2). 1007500. [90-44-8]. Antracen-9(10*H*)-one.

Polvere cristallina giallo pallida.

p.f.: circa 155 °C.

Apigenina. C₁₅H₁₀O₅. (M_r 270,2). 1095800. [520-36-5]. 4',5,7-Triidrossiflavone.

Polvere giallastra chiara; praticamente insolubile in acqua, moderatamente solubile in alcool.

p.f.: circa 310 °C (con decomposizione).

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Camomilla romana fiore (0380)*, deponendo 10 µl di una soluzione 0,25 g/l in metanolo *R*. Il cromatogramma presenta nel terzo superiore una banda principale con fluorescenza giallo-verde.

Apigenina 7-glucoside. C₂₁H₂₀O₁₀. (M_r 432,4). 1095900. [578-74-5]. Apigetrina. 7-(β-D-Glucoripiranosilossi)-5-idrossi-2-(4-idrossifenil)-4*H*-1-benzopiran-4-one.

Polvere leggermente giallastra; praticamente insolubile in acqua, moderatamente solubile in alcool.

p.f.: da 198 °C a 201 °C.

Apigenina-7-(6-acetil)glucoside. C₂₃H₂₂O₁₁. (M_r 474,43). 4*H*-1-Benzopiran-4-one. 7-(6-*O*-acetil)-[(β-D-glucopiranosil)ossi]-5-idrossi-2-(4-idrossifenil). 5055.

Polvere gialla pallida.

p.f.: da 247 °C a 249 °C.

Aprotinina. 1007900. [9087-70-1]. Vedere la monografia *Aprotinina* (0580).

Arabinosio. C₅H₁₀O₅. (M_r 150,1). 1008000. [87-72-9]. L-(+)-Arabinosio.

Polvere cristallina bianca, molto solubile in acqua.

[α]_D²⁰: da + 103 a + 105, determinato su una soluzione 50 g/l in *acqua R* contenente circa lo 0,05 per cento di NH₃.

Arancio Sudan. C₁₆H₁₂N₂O. (M_r 248,3). 1110700. [842-07-9]. Colour Index No. 12055. 1-(Fenilazo)naftalen-2-olo. Sudan I.

Polvere rosso-arancione, praticamente insolubile in acqua, solubile in diclorometano.

p.f.: circa 131 °C.

Arbutina. C₁₂H₁₆O₇. (M_r 272,3). 1008100. [497-76-7]. Arbutoside. 4-Idrossifenil-β-D-glucopiranoside.

Aghi brillanti, bianchi, sottili, molto solubili in acqua, solubilissimi in acqua calda, solubili in alcool.

[α]_D²⁰: circa -64, determinato su una soluzione 20 g/l.

p.f.: circa 200 °C.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) come prescritto nella monografia *Uva ursina foglia* (1054); il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

L'arbutina utilizzata nella determinazione quantitativa dell'arbutina nella monografia Uva ursina foglia (1054) soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Uva ursina foglia* (1054).

Il contenuto di arbutina non è inferiore al 95 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Arbutoside. Vedere *arbutina R*.

Argento dietilditiocarbammato. C₅H₁₀AgNS₂. (M_r 256,1). 1110400. [1470-61-7].

Polvere da giallo pallido a grigio-giallastro, praticamente insolubile in acqua, solubile in piridina.

Il reattivo può essere preparato come segue: disciogliere 1,7 g di *argento nitrato R* in 100 ml di *acqua R* e, a parte, 2,3 g di *sodio dietilditiocarbammato R* in 100 ml di *acqua R*. Raffreddare le due soluzioni a 10 °C, mescolare e, agitando, raccogliere il precipitato

giallo su un filtro di vetro sinterizzato. Lavare il precipitato con 200 ml di *acqua R* fredda e poi essiccarlo nel vuoto per 2-3 h.

L'argento dietilditiocarbammato può essere utilizzato solo fintanto che non abbia cambiato aspetto e non svolga odore forte.

Argento nitrato. 1078300. [7761-88-8]. Vedere la monografia *Argento nitrato* (0009).

Argento nitrato soluzione R1. 1078301.

Soluzione 42,5 g/l.

Conservare al riparo dalla luce.

Argento nitrato soluzione R2. 1078302.

Soluzione 17 g/l.

Conservare al riparo dalla luce.

Argento nitrato soluzione ammoniacale. 1078303.

Disciogliere 2,5 g di *argento nitrato R* in 80 ml di *acqua R* e aggiungere *ammoniaca diluita R1* goccia a goccia fino al discioglimento del precipitato. Diluire a 100 ml con *acqua R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Argento nitrato soluzione in piridina. 1078304.

Soluzione 85 g/l in *piridina R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Argento nitrato reattivo. 1078305.

Ad una miscela di 3 ml di *ammoniaca concentrata R* e 40 ml di *sodio idrossido 1 M*, aggiungere 8 ml di una soluzione (200 g/l) di *argento nitrato R*, goccia a goccia, agitando. Diluire a 200 ml con *acqua R*.

Argento ossido. Ag₂O. (M_r 231,7). 1078400. [20667-12-3]. Diargento ossido.

Polvere nero-brunastra, praticamente insolubile in acqua e in alcool, molto solubile in acido nitrico diluito e in ammoniaca.

Conservare al riparo dalla luce.

Arginina. 1103600. [74-79-3]. Vedere la monografia *Arginina* (0806).

Argon. Ar. (A_r 39,95). 1008200. [7440-37-1].

Contiene non meno del 99,995 per cento V/V di Ar.

Carbonio monossido. Se utilizzato come descritto nel saggio *Monossido di carbonio nei gas* (Metodo I, 2.5.25), dopo il passaggio di 10 litri di *argon R* ad una velocità di flusso di 4 litri per ora, non sono necessari più di 0,05 ml di *sodio tiosolfato 0,002 M* per la titolazione (0,6 ppm V/V).

Aromadendrene. C₁₅H₂₄ (M_r 204,4). 1139100. [489-39-4]. (1*R*,2*S*,4*R*,8*R*,11*R*)-3,3,11-Trimetil-7-metilenetriciclo-[6.3.0.0^{2,4}]undecano.

Liquido limpido, quasi incolore.

d_4^{20} : circa 0,911.

n_D^{20} : circa 1,497.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 12.

p.e.: circa 263 °C.

L'aromadendrene usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Melaleuca essenza (1837)*.

Il contenuto non è inferiore al 92 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Arpagoside. $C_{24}H_{30}O_{11}$. (M_r 494,5). 1098600.

Polvere cristallina bianca, molto igroscopica, solubile in acqua e in alcool.

p.f.: da 117 °C a 121 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Arsenito soluzione. 1008301.

Disciogliere 0,50 g di *anidride arseniosa R* in 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*, aggiungere 2,0 g di *sodio bicarbonato R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Asiaticoside. $C_{48}H_{78}O_{19}$. (M_r 959). 1123500. [16830-15-2]. *O*-6-Desossi- α -L-mannopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosil-2 α ,3 β ,23-triidrossi-4 α -urs-12-en-28-oato.

Polvere bianca, igroscopica, solubile in metanolo, poco solubile in etanolo, insolubile in acetonitrile.

p.f.: circa 232 °C con decomposizione.

Acqua (2.5.12): 6,0 per cento.

Conservare al riparo dall'umidità.

L'asiaticoside utilizzato in cromatografia liquida soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Centella (1498)*.

Il contenuto non è inferiore al 97,0 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

L-Aspartil-L-fenilalanina. $C_{13}H_{16}N_2O_5$. (M_r 280,3). 1008500. [13433-09-5]. Acido (*S*)-3-ammino-*N*-[(*S*)-1-carbossi-2-fenilettil]succinammico.

Polvere bianca.

p.f.: circa 210 °C, con decomposizione.

Azo-violetto. $C_{12}H_9N_3O_4$. (M_r 259,22). 4-(*p*-Nitrofenilazo)resorcinolo.

Polvere rossa.

p.f.: 193 °C circa, con decomposizione.

Azometina H. $C_{17}H_{12}NNaO_8S_2$. (M_r 445,4). 1008700. [5941-07-1]. Sodio idrogeno 4-idrossi-5-(2-idrossibenzi-lidenammino)-2,7-naftalendisolfonato.

Azometina H soluzione. 1008701.

Disciogliere 0,45 g di *azometina H R* e 1 g di *acido ascorbico R* riscaldando leggermente in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Azoto. N_2 . (M_r 28,01). 1059300. [7727-37-9].

Azoto lavato ed essiccato.

Azoto R1. 1059400.

Contiene non meno del 99,999 per cento *V/V* di N_2 .

Carbonio monossido: meno di 5 ppm.

Ossigeno: meno di 5 ppm.

Azoto esente da ossigeno. 1059600.

Azoto R privato dell'ossigeno mediante passaggio attraverso *pirogallolo soluzione alcalina R*.

Azoto gas miscela. 1136900.

Azoto R contenente l'1 per cento *V/V* di ciascuno dei seguenti gas: *anidride carbonica R2*, *carbonio monossido R1* e *ossigeno R1*.

Azoto monossido. NO. (M_r 30,01). 1108300.

Contiene non meno del 98,0 per cento *V/V* di NO.

Azoto per cromatografia. 1059500.

Contiene non meno del 99,95 per cento *V/V* di N_2 .

Azoto protossido. N_2O . (M_r 44,01). 1108500.

Contiene non meno del 99,99 per cento *V/V* di N_2O .

Azoto monossido: meno di 1 ppm.

Carbonio monossido: meno di 1 ppm.

Azzurro.... Vedere *blu...R*.

Barbaloina. $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$. (M_r 436,4). 1008800. [1415-73-2]. Aloina. 1,8-Diidrossi-3-idrossimetil-10- β -D-glucopiranosil-10*H*-antracen-9-one monoidrato.

Polvere cristallina da giallo a giallo scuro, o aghi gialli, che imbruniscono per esposizione all'aria e alla luce, moderatamente solubili in acqua e in alcool, solubili in acetone, in ammoniacca e nelle soluzioni di idrossidi alcalini, molto poco solubili in etere.

$A_{1cm}^{1\%}$: circa 192 a 269 nm, circa 226 a 296,5 nm, circa 259 a 354 nm, determinata su una soluzione in *metanolo R* e calcolata con riferimento alla sostanza anidra.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Frangola corteccia (0025)*; il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Barbital. 1008900. [57-44-3]. Vedere monografia *Barbital (0170)*.

Barbital sodico. $C_8H_{11}N_2NaO_3$. (M_r 206,2). 1009000. [144-02-5].

Contiene non meno del 98,0 per cento del derivato sodico del 5,5-dietil-1*H*,3*H*,5*H*-pirimidin-2,4,6-trione.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool, praticamente insolubili in etere.

Bario carbonato. BaCO_3 . (M_r 197,3). 1009200. [513-77-9].

Polvere bianca o masse friabili, praticamente insolubili in acqua.

Bario cloruro. $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. (M_r 244,3). 1009300. [10326-27-9]. Bario dicloruro.

Cristalli incolori, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool.

Bario cloruro soluzione R1. 1009301.

Soluzione 61 g/l.

Bario cloruro soluzione R2. 1009302.

Soluzione 36,5 g/l.

Bario idrossido. $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$. (M_r 315,5). 1009400. [12230-71-6]. Bario diidrossido ottaidrato.

Cristalli incolori, solubili in acqua.

Bario idrossido soluzione. 1009401. Acqua di barite.

Soluzione 47,3 g/l.

Bario solfato. 1009500. [7727-43-7]. Vedere la monografia *Bario solfato* (0010).

Benzalconio cloruro. Vedere la monografia *Benzalconio cloruro* (0372).

Benzaldeide. $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$. (M_r 106,1). 1009600. [100-52-7].

Liquido incolore o leggermente giallo, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,05.

n_D^{20} : circa 1,545.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 177 °C e 180 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Benzene. C_6H_6 . (M_r 78,1). 1009800. [71-43-2]. Benzolo.

Liquido infiammabile, incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

p.e.: circa 80 °C.

Benzetonio cloruro. $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{ClNO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. (M_r 466,1). 1009900. [121-54-0]. Benzildimetil[2-[2-[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenossi]etossi]etil]ammonio cloruro monoidrato.

Polvere bianca fine o cristalli incolori, solubili in acqua e in alcool, poco solubili in etere.

p.f.: circa 163 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Benzidina. $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2$. (M_r 184,2). 1145300. [92-87-5]. Bifenil-4,4'-diammina.

Contiene non meno del 95 per cento di $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2$.

Polvere bianca o leggermente gialla o rossa, tende ad annerire per esposizione all'aria e alla luce.

p.f.: circa 120 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Benzile. $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2$. (M_r 210,2). 1117800. [134-81-6]. Difeniletandione.

Polvere cristallina gialla, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool, in etile acetato e in toluene.

p.f.: 95 °C.

Benzile benzoato. 1010800. [120-51-4]. Vedere la monografia *Benzile benzoato* (0705).

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Balsamo del Perù* (0754) deponendo 20 µl di una soluzione allo 0,3 per cento in *etile acetato R*. Dopo aver spruzzato e riscaldato, il cromatogramma presenta una macchia principale con un R_f di circa 0,8.

Benzile cinnamato. $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2$. (M_r 238,3). 1010900. [103-41-3]. Benzile 3-fenil-2-propenoato.

Cristalli incolori o giallastri, praticamente insolubili in acqua, solubili in alcool e in etere.

p.f.: circa 39 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Balsamo del Perù* (0754) deponendo 20 µl di una soluzione (3 g/l) in *etile acetato R*. Dopo aver spruzzato e riscaldato, il cromatogramma presenta una macchia principale con un R_f di circa 0,6.

Benzilpenicillina sodica. 1011000. [69-57-8]. Vedere la monografia *Benzilpenicillina sodica* (0114).

2-Benzilpiridina. $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}$. (M_r 169,2). 1112900. [101-82-6].

Contiene non meno del 98,0 per cento di $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}$.

Liquido giallo.

p.f.: da 13 °C a 16 °C.

Benzocaina. 1123600. [94-09-7]. Vedere la monografia *Benzocaina* (0011).

1,4-Benzochinone. $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$. (M_r 108,1). 1118500. [106-51-4]. Cicloesa-2,5-dien-1,4-dione.

Contiene non meno del 98,0 per cento di $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$.

Benzofenone. $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}$. (M_r 182,2). 1010300. [119-61-9]. Difenilmetanone.

Cristalli prismatici, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in alcool e in etere.

p.f.: circa 48 °C.

Benzoilarginina estere etilico cloridrato. $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_3$. (M_r 342,8). 1010500. [2645-08-1]. *N*-Benzoil-*L*-arginina estere etilico cloridrato. Etile (*S*)-2-benzammido-5-guanidinovalerato cloridrato. BAEE.

Polvere cristallina bianca, solubilissima in acqua e in etanolo, praticamente insolubile in etere.

$[\alpha]_D^{20}$: da -15 a -18, determinato su una soluzione 10 g/l.
p.f.: circa 129 °C.

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$: da 310 a 340, determinata a 227 nm utilizzando una soluzione 0,01 g/l.

N-Benzoil-L-prolil-L-fenilalanil-L-arginina 4-nitroanilide acetato. $C_{35}H_{42}N_8O_8$. (M_r 703). 1010600.

Benzoile cloruro. C_7H_5ClO . (M_r 140,6). 1010400. [98-88-4].

Liquido incolore, lacrimogeno, solubile in etere, si decompone in acqua e in alcool.

d_{20}^{20} : circa 1,21.

p.e.: circa 197 °C.

2-Benzoilpiridina. $C_{12}H_9NO$. (M_r 183,2). 1134300. [91-02-1]. Fenil(2-piridinil)metanone.

Cristalli incolori, solubili in alcool.

p.f.: circa 43 °C.

Benzoino. $C_{14}H_{12}O_2$. (M_r 212,3). 1010200. [579-44-2]. 2-Idrossi-1,2-difeniletanone.

Cristalli leggermente giallastri, molto poco solubili in acqua, molto solubili in acetone, solubili in alcool caldo, moderatamente solubili in etere.

p.f.: circa 137 °C.

Berberina emisolfato. $C_{20}H_{19}NO_8S$. (M_r 384,4). Berberina solfato neutro.

Bergaptene. $C_{12}H_8O_4$. (M_r 216,2). 1103700. [484-20-8]. 5-Metossipsoralene.

Cristalli incolori, praticamente insolubili in acqua, moderatamente solubili in alcool e poco solubili in acido acetico glaciale.

p.f.: circa 188 °C.

Betulina. $C_{30}H_{50}O_2$. (M_r 442,7). 1011100. [473-98-3]. Lup-20(39)-en-3 β ,28-diolo.

Polvere bianca cristallina.

p.f.: da 248 °C a 251 °C.

Bicinconinato disodico. $C_{20}H_{10}N_2Na_2O_4$. (M_r 388,3). 1126600. [979-88-4]. 2,2'-Bichinolin-4-4'-dicarbossilato disodico.

Bisbenzimmide. $C_{25}H_{27}Cl_3N_6O \cdot 5H_2O$. (M_r 624). 1103800. [23491-44-3]. 4-[5-[5-(4-metilpiperazi-1-il)benzimidazol-2-il]benzimidazol-2-il]fenolo tricloridrato pentaidrato.

Bisbenzimmide soluzione madre. 1103801.

Disciogliere 5 mg di *bisbenzimmide R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Conservare al buio.

Bisbenzimmide soluzione di lavoro. 1103802.

Immediatamente prima dell'uso diluire 100 μ l di *bisbenzimmide soluzione madre R* a 100 ml con *tampone fosfato soluzione salina a pH 7,4 R*.

2,2'-Bis(idrossimetil)propan-1,3-diolo tetrakis[3-[3,5-bis(1,1-dimetiletil) 4-idrossifenil] propionato]. Vedere *pentaitritile tetrakis[3-[3,5-di(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]] propionato R*.

Bis(metilfenilossazolil)benzene. Vedere *metilfenilossazolilbenzene R*.

Bismuto sottonitrato.

$[4BiNO_3(OH)_2 \cdot BiO(OH)]$. (M_r 1462). 1011500. [1304-85-4].

Polvere bianca, praticamente insolubile in acqua.

Bismuto sottonitrato R1. 1011501.

Contiene non meno del 71,5 per cento e non più del 74,0 per cento di bismuto (Bi), e non meno del 14,5 per cento e non più del 16,5 per cento di nitrato, calcolato come pentossido di azoto (N_2O_5).

Bismuto sottonitrato soluzione. 1011502.

Disciogliere 5 g di *bismuto sottonitrato R1* in una miscela di 8,4 ml di *acido nitrico R* e 50 ml di *acqua R* e diluire a 250 ml con *acqua R*. Filtrare se necessario.

Acidità. A 10 ml aggiungere 0,05 ml di *metilarancio soluzione R*. Sono necessari 5,0-6,25 ml di *sodio idrossido 1 M* per far virare l'indicatore.

Biureto. $C_2H_5N_3O_2$. (M_r 103,1). 1011600. [108-19-0].

Cristalli bianchi, igroscopici, solubili in acqua, moderatamente solubili in alcool, molto poco solubili in etere.
p.f.: da 188 °C a 190 °C, con decomposizione.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Biureto reattivo. 1011601.

Disciogliere 1,5 g di *rame(-ico) solfato R* e 6,0 g di *potassio e sodio tartrato R* in 500 ml di *acqua R*. Aggiungere 300 ml di una soluzione (100 g/l) di *sodio idrossido R* esente da carbonato, diluire a 1000 ml con la stessa soluzione e mescolare.

Blu acido 83. $C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$. (M_r 826). 1012200. [6104-59-2]. Colour Index No. 42660. Blu brillante R. Blu brillante di Coomassie R 250.

Polvere marrone insolubile in acqua fredda, poco solubile in acqua bollente e in etanolo, solubile in acido solforico, in acido acetico glaciale e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Blu acido 90. $C_{47}H_{48}N_3NaO_7S_2$. (M_r 854). 1001300. [6104-58-1]. Colour Index No. 42655. Sodio [4-[[4-(4-etossifenil)ammino]fenil][4-(etil)(3-solfonatobenzil)ammino]fenil]metilen]cicloesa-2,5-dien-1-iliden](etil)-(3-solfonatobenzil)ammonio.

Polvere marrone scuro, di lucentezza violetta, con alcune particelle di lucentezza metallica, solubile in acqua e in etanolo.

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$: maggiore di 500, determinata a 577 nm usando una soluzione 0,01 g/l in una soluzione tampone a pH 7,0 e calcolata con riferimento alla sostanza essiccata.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 5,0 per cento, determinata su 0,500 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C.

Blu acido 92. $C_{26}H_{16}N_3Na_3O_{10}S_3$. (M_r 696). 1001400. [3861-73-2]. Colour Index No. 13390. Blu di Coomassie. Sodio anazolene. Trisodio 8-idrossi-4'-(fenilammino)-azonaftalen-3,5',6-trisolfonato.

Cristalli blu scuro poco solubili in alcool, solubili in acqua, in acetone e in glicole etilenico monoetiletere.

Blu acido 92 soluzione. 1001401.

Disciogliere 0,5 g di *blu acido 92 R* in una miscela di 10 ml di *acido acetico glaciale R*, 45 ml di *alcool R* e 45 ml di *acqua R*.

Blu acido 93. $C_{37}H_{27}N_3Na_2O_9S_3$. (M_r 800). 1134200. [28983-56-4]. Colour Index No. 42780. Blu metile. Blu di Poirrier.

Una miscela di trifenilrosanilina di- e trisolfonato e di trifenilpararosanilina.

Polvere blu scura.

Viraggio. Da pH 9,4 a pH 14,0.

Blu acido 93 soluzione. 1134201.

Disciogliere 0,2 g di *blu acido 93 R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Blu brillante. 1012200. [6104-59-2]. Vedere *blu acido 83 R*.

Blu bromofenolo. $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$. (M_r 670). 1012800. [115-39-9]. 3',3'',5',5''-Tetrabromofenolsolfonftaleina. 4,4'-(3*H*-2,1-Benzossatiol-3-iliden)bis[2,6-dibromofenolo] *S,S*-diossido. Azzurro di bromofenolo.

Polvere giallo-arancione chiaro, molto poco solubile in acqua, poco solubile in alcool, molto solubile nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

Blu bromofenolo soluzione. 1012801.

Disciogliere 0,1 g di *blu bromofenolo R* in 1,5 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 20 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. A 0,05 ml della soluzione di blu bromofenolo aggiungere 20 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* e 0,05 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. La soluzione è gialla. Non sono necessari più di 0,1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* per far virare la colorazione al violetto-bluastro.

Viraggio. Da pH 2,8 (giallo) a pH 4,4 (violetto-bluastro).

Blu bromofenolo soluzione R1. 1012802.

Disciogliere 50 mg di *blu bromofenolo R*, riscaldando leggermente, in 3,73 ml di *sodio idrossido 0,02 M* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Blu bromofenolo soluzione R2. 1012803.

Disciogliere, riscaldando, 0,2 g di *blu bromofenolo R* in 3 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 10 ml di *alcool R*. Dopo aver preparato la soluzione, lasciare raffreddare e diluire a 100 ml con *alcool R*.

Blu bromotimolo. $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$. (M_r 624). 1012900. [76-59-5]. 3',3''-Dibromotimolsolfonftaleina. 4,4'-(3*H*-2,1-Benzossatiol-3-iliden)bis[2-bromo-6-isopropil-3-metilfenolo] *S,S*-diossido. Bromotimolo azzurro.

Polvere da rosa-rossastra a brunastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Blu bromotimolo soluzione R1. 1012901.

Disciogliere 50 mg di *blu bromotimolo R* in una miscela di 4 ml di *sodio idrossido 0,02 M* e 20 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. A 0,3 ml della *blu bromotimolo soluzione R1* aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. La soluzione è gialla. Non sono necessari più di 0,1 ml di *sodio idrossido 0,02 M* per far virare la colorazione al blu.

Viraggio. Da pH 5,8 (giallo) a pH 7,4 (blu).

Blu bromotimolo soluzione R2. 1012902.

Soluzione 10 g/l in *dimetilformammide R*.

Blu bromotimolo soluzione R3. 1012903.

Riscaldare 0,1 g di *blu bromotimolo R* con 3,2 ml di *sodio idrossido 0,05 M* e 5 ml di *alcool al 90 per cento V/V R*. Dopo solubilizzazione, diluire a 250 ml con *alcool al 90 per cento V/V R*.

Blu destrano 2000. 1011700. [9049-32-5].

Preparato dal destrano con una massa molecolare relativa media di 2×10^6 introducendo un cromoforo policiclico che colora la sostanza in blu. Il grado di sostituzione è 0,017. E' liofilizzato ed è rapidamente e completamente solubile in acqua e nelle soluzioni saline acquose.

Una soluzione 1 g/l in *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R* presenta un massimo di assorbimento (2.2.25) a 280 nm.

Blu di Coomassie. 1001400. [3861-73-2]. Vedere *blu acido 92 R*.

Blu di Coomassie soluzione. 1001401. Vedere *blu acido 92 soluzione R*.

Blu di fibrina. Vedere *fibrina blu R*.

Blu di disulfina. $C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$. (M_r 566,6). 1086000. [129-17-9]. Schultz No. 769. Colour Index No. 42045. Blu acido 1. Blu VS. Blu sulfan. Sodio [[4-dietilamminofenil](2,4-disolfonatofenil)metilen]cicloesa-2,5-dien-1-iliden]dietilammonio.

Polvere violetta, solubile in acqua. Le soluzioni diluite sono blu e virano al giallo per aggiunta di acido cloridrico concentrato.

Blu di Poirrier. Vedere *blu acido 93 R*.

Blu di Poirrier soluzione. Vedere *blu acido 93 soluzione R*.

Blu idrossinaftolo, sale sodico. $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{11}S_3$. (M_r 620). 1044500. [63451-35-4]. Trisodio 2,2'-diidrossi-1,1'-azonaftalen-3',4,6'-trisolfonato.

Blu metilene. $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot xH_2O$. (M_r 319,9 per la sostanza anidra). 1055800. [7220-79-3]. Schultz No. 1038. Colour Index No. 52015. 3,7-Bis(dimetilammino)-5-fenotiazinio cloruro. Si presenta in diverse forme idratate e può contenere fino al 22 per cento di acqua.

Polvere cristallina, verde scuro o bronzo, molto solubile in acqua, solubile in alcool.

Blu metiltimolo. $C_{37}H_{40}N_2Na_4O_{13}S$. (M_r 845). 1158500. [1945-77-3]. Tetrasodio 2,2',22'',2'''-[3H-2,1-benzossatiol-3-ilidenbis[[6-idrossi-2-metil-5-(1-metiletil)-3,1-fenil]metilnitrilo]]tetracetato-S,S-diossido.

Si sviluppa una colorazione blu in presenza di calcio in soluzione alcalina.

Blu metiltimolo miscela. 1158501.

Una miscela di 1 parte di *blu metiltimolo R* e 100 parti di *potassio nitrato R*.

Blu Nilo A. $C_{20}H_{21}N_3O_5S$. (M_r 415,5). 1058200. [3625-57-8]. Schultz No. 1029. Colour Index No. 51180. 5-Ammino-9-dietilamminobenzo[a]fenossazinio idrogeno solfato. Nilo blu A.

Polvere cristallina verde con una lucentezza bronzea, moderatamente solubile in alcool, in acido acetico glacial e in piridina.

Una soluzione 0,005 g/l in *alcool al 50 per cento V/V R* presenta un'assorbanza massima (2.2.25) a 640 nm.

Blu Nilo A soluzione. 1058201. Nilo blu A soluzione.

Soluzione 10 g/l in *acido acetico anidro R*.

Saggio di sensibilità. A 50 ml di *acido acetico anidro R* aggiungere 0,25 ml di Blu Nilo A soluzione. La soluzione è blu. Per aggiunta di 0,1 ml di *acido perclorico 0,1 M*, la colorazione vira al verde bluastro.

Viraggio. Da pH 9,0 (blu) a pH 13,0 (rosso).

Blu nitrotetrazolio. $C_{40}H_{30}Cl_2N_{10}O_6$. (M_r 818). 1060000. [298-83-9]. 3,3'-(3,3'-Dimetossi-4,4'-difenil)bis[2-(4-nitrofenil)-5-fenil-2H-tetrazolio] dicloruro. Blu *p*-nitrotetrazolio.

Cristalli, solubili in metanolo dando luogo ad una soluzione gialla limpida.

p.f.: circa 189 °C, con decomposizione.

Blu oracet 2R. $C_{20}H_{14}N_2O_2$. (M_r 314,3). 1061100. [4395-65-7]. Colour Index No. 61110. 1-Ammino-4-(fenilammino)antracen-9,10-dione.

p.f.: circa 194 °C.

Blu solido B sale. $C_{14}H_{12}Cl_2N_4O_2$. (M_r 339,2). 1037400. [84633-94-3]- Schultz No. 490. Colour Index No. 37235. 3,3'-Dimetossidifenil-4,4'bisdiazonio dicloruro.

Polvere verde scuro, solubile in acqua. E' stabilizzata per aggiunta di zinco cloruro.

Conservare in recipiente ermeticamente chiuso, a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

Blu sulfan. Vedere *blu di disulfina R*.

Blu tetrazolio. $C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$. (M_r 728). 1089000. [1871-22-3]. 3,3'-(3,3'-Dimetossi[1,1'-difenil]-4,4'-diil)bis[2,5-difenil-2H-tetrazolio] dicloruro.

Cristalli gialli, poco solubili in acqua, molto solubili in alcool e in metanolo, praticamente insolubili in acetone e in etere.

p.f.: circa 245 °C, con decomposizione.

Blu tetrazolio soluzione alcalina.

Ad 1 volume di una soluzione (2 g/l) di *blu tetrazolio R* aggiungere 3 volumi di una soluzione (120 g/l) di *sodio idrossido R* in *metanolo R*.

Preparare al momento dell'uso.

Blu timolo. $C_{27}H_{30}O_5S$. (M_r 466,6). 1090600. [76-61-9]. Timolsolfonftaleina. 4,4'-(3H-2,1-benzossatiol-3-iliden)bis[2-isopropil-5-metilfenolo] S,S-diossido.

Polvere cristallina da verde-brunastra a blu-verdastra, poco solubile in acqua, solubile in alcool e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Blu timolo soluzione. 1090601.

Disciogliere 0,1 g di *blu timolo R* in una miscela di 2,15 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 20 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. A 0,1 ml della blu timolo soluzione aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* e 0,2 ml di *sodio idrossido 0,02 M*. La soluzione è blu. Non sono necessari più di 0,15 ml di *acido cloridrico 0,02 M* per far virare la colorazione al giallo.

Viraggio. Da pH 1,2 (rosso) a pH 2,8 (giallo); da pH 8,0 (verde-oliva) a pH 9,6 (blu).

Blu toluidina. $C_{15}H_{16}ClN_3S$. (M_r 305,8). 1091900. [92-31-9]. Schultz No. 1041. Colour Index No. 52040. Blu toluidina O. 3-Ammino-7-dimetilammino-2-metil-5-fenotiazinio cloruro.

Polvere verde scuro, solubile in acqua, poco solubile in alcool.

Boldina. $C_{19}H_{21}NO_4$. (M_r 327,4). 1118800. [476-70-0]. 1,10-Dimetossi-6aa-aporfina-2,9-diolo.

Polvere bianca cristallina, poco solubile in acqua, solubile in alcool e nelle soluzioni diluite di acidi.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 127, determinato su una soluzione (1 g/l) in *etanolo R*.

p.f.: circa 163 °C.

Cromatografia. Esaminato come prescritto nella monografia *Boldo foglia (1396)*, il cromatogramma presenta un'unica macchia principale.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) nelle condizioni prescritte nella monografia *Boldo foglia (1396)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Borace. Vedere la monografia *Borace (0013)*.

Borneolo. $C_{10}H_{18}O$. (M_r 154,3). 1011900. [507-70-0]. *endo*-1,7,7-Trimetilbicciclo[2.2.1]eptan-2-olo.

Cristalli incolori, sublimano facilmente, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in alcool, in etere e in etere di petrolio.

p.f.: circa 208 °C.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento. Deposare sulla lastra 10 μ l di una soluzione 1 g/l in *toluene R*. Eluire per un percorso di 10 cm usando *cloroformio R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria, spruzzare con *anisaldeide soluzione R*, usando 10 ml per una lastra di 200 mm \times 200 mm, e scaldare a 100-105 °C per 10 min. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Bornile acetato. $C_{12}H_{20}O_2$. (M_r 196,3). 1012000. [5655-61-8]. *endo*-1,7,7-Trimetilbicciclo[2.2.1]ept-2-il acetato.

Cristalli incolori o liquido incolore, molto poco solubile in acqua, solubile in alcool e in etere.

p.f.: circa 28 °C.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento. Deposare sulla lastra 10 μ l di una soluzione 2 g/l in *toluene R*. Eluire per un percorso di 10 cm usando *cloroformio R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria, spruzzare con *anisaldeide soluzione R*,

usando 10 ml per una lastra di 200 mm \times 200 mm, e scaldare a 100-105 °C per 10 min. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Boro tricoloruro. BCl_3 . (M_r 117,2). 1112000. [10294-34-5].

Gas incolore. Reagisce violentemente con acqua. Disponibile sotto forma di soluzioni in adatti solventi (2-cloroetano, diclorometano, esano, eptano, metanolo).

n_D^{20} : circa 1,420.

p.e.: circa 12,6 °C.

Attenzione: tossico, corrosivo.

Boro tricoloruro-metanolo soluzione. 1112001. Una soluzione contenente 120 g/l di BCl_3 in *metanolo R*.

Conservare al riparo dalla luce a -20 °C, preferibilmente in tubi sigillati.

Boro trifluoruro. BF_3 . (M_r 67,8). 1012100. [7637-07-2].

Gas incolore.

Boro trifluoruro-metanolo soluzione. 1012101.

Una soluzione contenente 140 g/l di *boro trifluoruro R* in *metanolo R*.

Bromelina. 1012300. [37189-34-7].

Concentrato di enzimi proteolitici ottenuto da *Ananas comosus* Merr.

Polvere giallo opaca.

Attività: 1 g libera in 20 min circa 1,2 g di azoto amminico da una soluzione di *gelatina R* a 45 °C e a pH 4,5.

Bromelina soluzione. 1012301.

Soluzione 10 g/l di *bromelina R* in una miscela di 1 volume di *tampone fosfato soluzione a pH 5,5 R* e 9 volumi di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*.

Bromo. Br_2 . (M_r 159,8). 1012400. [7726-95-6].

Liquido fumante rosso-brunastro, poco solubile in acqua, solubile in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 3,1.

Bromo (acqua di). Vedere *acqua di bromo R*.

Bromo soluzione. 1012401.

Disciogliere 30 g di *bromo R* e 30 g di *potassio bromuro R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

5-Bromo-2'-desossiuridina. $C_9H_{11}BrN_2O_5$. (M_r 307,1). 1012500. [59-14-3]. 5-Bromo-1-(2-desossi- β -D-eritropentofuranosil)-1H,3H-pirimidin-2,4-dione.

p.f.: circa 194 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Idoxuridina (0669)*, deponendo 5 μ l di una soluzione 0,25 g/l. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Bromocresolo porpora. $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$. (M_r 540,2). 1012700. [115-40-2]. 3',3''-Dibromo-*o*-cresolsolfonftaleina. 4,4'-(3*H*-2,1-Benzossatiol-3-iliden)bis[2-bromo-6-metilfenolo]-*S,S*-diossido. Rosso bromocresolo.

Polvere rosata, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Bromocresolo porpora soluzione. 1012701.

Disciogliere 50 mg di *bromocresolo porpora R* in 0,92 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 20 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio per la sensibilità. A 0,2 ml della soluzione di bromocresolo porpora aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* e 0,05 ml di *sodio idrossido 0,02 M*. La soluzione è blu-violetta. Non sono necessari più di 0,2 ml di *acido cloridrico 0,02 M* per far virare il colore al giallo.

Viraggio. Da pH 5,2 (giallo) a pH 6,8 (blu-violetto).

Bromocresolo verde. Vedere *verde bromocresolo R*.

Bromofos. $C_8H_8BrCl_2O_3PS$. (M_r 366,0). 1123700. [2104-96-3].

Può essere utilizzata una adatta e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

Bromofos-etile. $C_{10}H_{12}BrCl_2O_3PS$. (M_r 394,0). 1123800. [4824-78-6].

Può essere utilizzata una adatta e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

BRP indicatore soluzione. 1013000.

Disciogliere 0,1 g di *blu bromotimolo R*, 20 mg di *rosso metile R* e 0,2 g di *fenolfaleina R* in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Filtrare.

Brucina. $C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot 2H_2O$. (M_r 430,5). 1013100. [357-57-3]. 10,11-Dimetossistricina.

Cristalli incolori, poco solubili in acqua, molto solubili in alcool e in etere.

p.f.: circa 178 °C.

Butanale. C_4H_8O . (M_r 72,1). 1134400. [123-72-8]. Butirraldeide.

d_{20}^{20} : circa 0,806.

n_D^{20} : circa 1,380

p.e.: circa 75 °C.

Butanolo. $C_4H_{10}O$. (M_r 74,1). 1013200. [71-36-3]. *n*-Butanolo. 1-Butanolo. Alcool butilico.

Liquido incolore, limpido, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,81.

p.e.: 116-119 °C.

2-Butanolo R1. $C_4H_{10}O$. (M_r 74,1). 1013301. [78-92-2]. Alcool *sec*-butilico.

Contiene non meno del 99,0 per cento di $C_4H_{10}O$.

Liquido incolore, limpido, solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,81.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 99 °C e 100 °C.

Determinazione quantitativa. Mediante gas cromatografia come descritto nella cromatografia *Alcool isopropilico (0970)*.

Butilammina. $C_4H_{11}N$. (M_r 73,1). 1013600. [109-73-9]. 1-Butanammina.

Distillare e usare entro un mese.

Liquido incolore, miscibile con acqua, con alcool e con etere.

n_D^{20} : circa 1,401.

p.e.: circa 78 °C.

tert-Butilammina. 1100900. [75-64-9]. Vedere (*1,1-dimetil*)etilammina *R*.

Butile acetato. $C_6H_{12}O_2$. (M_r 116,2). 1013400. [123-86-4].

Liquido infiammabile, incolore, limpido, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,88.

n_D^{20} : circa 1,395.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 123 °C e 126 °C.

Butile acetato R1. 1013401.

Liquido incolore, limpido, infiammabile, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,883.

n_D^{20} : circa 1,395.

Butanolo. Non più dello 0,2 per cento, determinato mediante gas cromatografia.

n-Butile formiato. Non più dello 0,1 per cento, determinato mediante gas cromatografia

n-Butile propionato. Non più dello 0,1 per cento, determinato mediante gas cromatografia.

Acqua. Non più dello 0,1 per cento.

Determinazione quantitativa. Non meno del 99,5 per cento di $C_6H_{12}O_2$, determinato mediante gas cromatografia.

Butile 4-idrossibenzoato. 1103900. [94-26-8].

Vedere *Butile paraidrossibenzoato R*.

Butile paraidrossibenzoato. 1103900. [94-26-8]. Vedere la monografia *Butile paraidrossibenzoato (0881)*.

tert-Butilidroperossido. $C_4H_{10}O_2$. (M_r 90,1). 1118000. [75-91-2]. 1,1-Dimetiletidroperossido.

Liquido infiammabile, solubile nei solventi organici.

d_{20}^{20} : 0,898.

n_D^{20} : 1,401.

p.e.: 35 °C.

Butilidrossitoluene. 1013800. [128-37-0]. 2,6-Di-*tert*-butil-4-metilfenolo. Idrossitoluene butilato. Vedere la monografia *Butilidrossitoluene (0581)*.

tert-Butilmetiletere. 1013900. [1634-04-4]. Vedere (*1,1-dimetiletil*)metiletere R.

Butirrolattone. C₄H₆O₂. (M_r 86,1). 1104000. [96-48-0]. Diidro-2(3*H*)-furanone. γ -Butirrolattone.

Liquido oleoso, miscibile con acqua, solubile in metanolo ed in etere.

n_D^{25} : circa 1,435.

p.e.: circa 204 °C.

Cadmio. Cd. (M_r 112,4). 1014100. [10108-64-2].

Metallo bianco-argenteo brillante, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in acido nitrico e in acido cloridrico caldo.

Caffeina. 1014400. [58-08-2]. Vedere la monografia *Caffeina (0267)*.

Calcio acetato anidro. C₄H₆CaO₄. (M_r 158,2).

Polvere bianca, solubile in acqua dando una soluzione leggermente opalescente che diventa limpida per riscaldamento o per aggiunta di alcune gocce di *acido acetico R*. Contiene non meno del 95 per cento di *calcio acetato anidro R* che si determina mediante il saggio *Ceneri solforiche (2.4.14)*.

1 g di ceneri equivale a 1,162 g di C₄H₆CaO₄.

Calcio carbonato. 1014500. [471-34-1]. Vedere la monografia *Calcio carbonato (0014)*.

Calcio carbonato R1. 1014501.

Soddisfa ai requisiti del *calcio carbonato R* e all'ulteriore requisito seguente:

Cloruri (2.4.4). Non più di 50 ppm.

Calcio cloruro. 1014600. [10035-04-8]. Vedere la monografia *Calcio cloruro (0015)*.

Calcio cloruro soluzione. 1014601.

Soluzione 73,5 g/l.

Calcio cloruro soluzione 0,01 M. 1014602.

Disciogliere 0,147 g di *calcio cloruro R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Calcio cloruro soluzione 0,02 M. 1014603.

Disciogliere 2,94 g di *calcio cloruro R* in 900 ml di *acqua R*, portare a pH 6,0-6,2 e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Conservare a 2-8 °C.

Calcio cloruro R1. CaCl₂·4H₂O. (M_r 183,1). 1014700. Calcio cloruro tetraidrato.

Contiene non più di 0,05 ppm di Fe.

Calcio cloruro anidro. CaCl₂. (M_r 111,0). 1014800. [10043-52-4].

Contiene non meno del 98,0 per cento di CaCl₂, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

Granuli bianchi, deliquescenti, solubilissimi in acqua, molto solubili in alcool e in metanolo.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 5,0 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 200 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dall'umidità.

Calcio fosfato monobasico monoidrato. Ca H₄O₈P₂·H₂O. M_r 252,1). 1157200 [7758-23-8]. Calcio tetraidrogeno difosfato monoidrato. Acido fosforico sale calcico (2:1) monoidrato.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, solubile in acqua.

Calcio idrossido. Ca(OH)₂. (M_r 74,1). 1015000. [1305-62-0]. Calcio diidrossido.

Polvere bianca, quasi completamente solubile in 600 parti di acqua.

Calcio idrossido soluzione. 1015001.

Soluzione satura preparata di recente.

Calcio lattato. 1015100. [41372-22-9]. Vedere la monografia *Calcio lattato pentaidrato (0468)*.

Calcio solfato. CaSO₄·½H₂O. (M_r 145,1). 1015200. [10034-76-1]. Calcio solfato emiidrato.

Polvere bianca, solubile in circa 1500 parti di acqua, praticamente insolubile in alcool. Se mescolata con dell'acqua pari alla metà della sua massa, solidifica rapidamente formando una massa dura e porosa.

Calcio solfato soluzione. 1015201.

Agitare 5 g di *calcio solfato R* con 100 ml di *acqua R* per 1 h e filtrare.

Calcone - acido carbossilico. Vedere *acido calconcarbossilico R*.

Camazulene. C₁₄H₁₆. (M_r 184,3). 1148000. [529-05-5]. 7-Etil-1,4-dimetilazulene.

Liquido blu, molto poco solubile in acqua, solubile in alcool, miscibile con oli grassi, con oli essenziali e con paraffina liquida, solubile con decolorazione in acido fosforico (85 per cento *m/m*) e acido solforico (50 per cento *V/V*).

Aspetto della soluzione. 50 mg si solubilizzano in 2,5 ml di *esano R*. La soluzione blu è limpida osservando lo strato che si forma inclinando la provetta.

Il camazulene usato in gas cromatografia soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Camomilla essenza (1836)*, utilizzando una soluzione 4 g/l in cicloesano R.

Il contenuto di camazulene non è inferiore al 95,0 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Camfene. C₁₀H₁₆. (M_r 136,2). 1139200. [79-92-5]. 2,2-Dimetil-3-metilenbicyclo[2.2.1]eptano.

Il camfene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Rosmarino essenza (1846)*.

Il contenuto non è inferiore al 90 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Canfora. 1113000. [76-22-2]. Vedere la monografia *Canfora racemica (0655)*.

La canfora usata in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Lavanda essenza (1338)*.

Soluzione in esame. Una soluzione 10 g/l della sostanza in esame in esano R.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto. Trascurare i picchi dovuti al solvente.

Caolino leggero. 1047400. [1332-58-7].

Silicato di alluminio idrato naturale purificato. Contiene un idoneo agente disperdente.

Polvere bianca, impalpabile, esente da particelle sabbiose, untuosa al tatto, praticamente insolubile in acqua e negli acidi minerali.

Particelle grossolane. Introdurre 5,0 g in un cilindro con tappo a smeriglio lungo circa 160 mm e con diametro di 35 mm ed aggiungere 60 ml di una soluzione (10 g/l) di *sodio pirofosfato R*. Agitare energicamente e lasciare a riposo per 5 min. Usando una pipetta, prelevare 50 ml del liquido da un punto posto a circa 5 cm sotto la superficie. Al liquido rimanente aggiungere 50 ml di *acqua R*, agitare, lasciare a riposo per 5 min e prelevare 50 ml come descritto prima. Ripetere le operazioni finché sia stato prelevato un totale di 400 ml. Trasferire la sospensione rimanente in una capsula per evaporazione. Evaporare a secco a b.m. ed essiccare il residuo fino a massa costante ad una temperatura di 100-105 °C. Il residuo pesa non più di 25 mg (0,5 per cento).

Particelle fini. Disperdere 5,0 g in 250 ml di *acqua R* agitando vigorosamente per 2 min. Versare immediata-

mente in un cilindro di vetro con diametro di 50 mm e, usando una pipetta, trasferire 20 ml in una capsula di vetro, evaporare a secco a b.m. ed essiccare fino a massa costante a 100-105 °C. Lasciare la sospensione rimanente a riposo a 20 °C per 4 h e, ponendo la punta di una pipetta esattamente a 5 cm sotto la superficie del liquido, aspirare altri 20 ml senza smuovere il sedimento, porre in una capsula di vetro, evaporare a secco fino a massa costante ad una temperatura di 100-105 °C. La massa del secondo residuo non è inferiore al 70 per cento di quella del primo residuo.

ε-Caprolattame. C₆H₁₁NO. (M_r 113,2). 1104200. [105-60-2]. Esano-6-lattame.

Lamine igroscopiche, molto solubili in acqua, in etanolo e in metanolo.

p.f.: circa 70 °C.

Capsaicina. C₁₈H₂₇NO₃. (M_r 305,4).

Cristalli incolori, praticamente insolubili in acqua, solubili in alcool, in benzene e in cloroformio.

p.f.: da 64 °C a 65 °C.

Carbazolo. C₁₂H₉N. (M_r 167,2). 1015400. [86-74-8]. Dibenzopirrolo.

Cristalli, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in acetone, poco solubili in etanolo.

p.f.: circa 245 °C.

Carbofenotio. C₁₁H₁₆ClO₂PS₃. (M_r 342,9). 1016200. [786-19-6]. *O,O*-dietileS-[[[4-clorofenil]tio]metil]fosforo ditioato.

Liquido giallastro, praticamente insolubile in acqua, miscibile con i solventi organici.

d_4^{25} : circa 1,27.

Per la monografia *Lanolina (0134)* può essere usata una opportuna soluzione di riferimento certificata (10 ng/μl in isotano).

Carbomero. 1015500. [9007-20-9].

Polimero reticolato dell'acido acrilico; contiene una grande proporzione (dal 56 per cento al 68 per cento) di gruppi carbossilici (CO₂H), calcolati con riferimento alla sostanza essiccata a 80 °C per 1 h. La massa molecolare relativa media è di circa 3 × 10⁶.

pH (2.2.3). Il pH di una sospensione 10 g/l è circa 3.

Carbone attivato. 1017800. [64365-11-3]. Vedere la monografia *Carbone attivato (0313)*.

Carbone grafitato per cromatografia. 1015900.

Catene di carbonio lunghe più di C₉ con una dimensione delle particelle di 400-850 μm.

Densità relativa: 0,72.

Area superficiale: 10 m²/g.

Non usare ad una temperatura superiore a 400 °C.

Carbonio diossido. Vedere *anidride carbonica R*.

Carbonio disolfuro. Vedere *Carbonio solfuro R*.

Carbonio monossido. CO. (M_r 28,01). 1016000. [630-08-0]. Monossido di carbonio.

Contiene non meno del 99,97 per cento V/V di CO.

Carbonio monossido R1. CO. (M_r 28,01). 1134600. [630-08-0].

Contiene non meno del 99 per cento V/V di CO.

Carbonio solfuro. CS₂. (M_r 76,1). 1015800. [75-15-0].

Liquido infiammabile, incolore o giallastro, praticamente insolubile in acqua, miscibile con etanolo e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,26.

p.e.: da 46 °C a 47 °C.

Carbonio tetracloruro. CCl₄. (M_r 153,8). 1016100. [56-23-5]. Tetraclorometano.

Liquido incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : da 1,595 a 1,598.

p.e.: da 76 °C a 77 °C.

3-Carene. C₁₀H₁₆. (M_r 136,2). 1124000. [498-15-7]. 3,7,7-Trimetilbicyclo[4.1.0]ept-3-ene. 4,7,7-Trimetil-3-norcarene.

Liquido con odore pungente, moderatamente solubile in acqua, solubile in solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,864.

n_D^{20} : da 1,473 a 1,474.

$[\alpha]_D^{20}$: da +15 a +17.

p.e.: da 170 °C a 172 °C.

Il 3-carene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Noce moscata essenza (1552)*.

Il contenuto non è inferiore al 95,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

β -Cariofillene. C₁₅H₂₄. (M_r 204,4). 1101000. [87-44-5]. (E)-(1R,9S)-4,11,11-Trimetil-8-metilenbicyclo[7.2.0]undec-4-ene.

Liquido oleoso, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_4^{17} : 0,905 circa.

n_D^{20} : 1,492 circa.

$[\alpha]_D^{15}$: -5,2 circa.

p.e.₁₄: da 129 °C a 130 °C.

Il β -cariofillene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Garofano chiodi (1091)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,5 per cento dell'area totale dei picchi.

Cariofillene ossido. C₁₅H₂₄O. (M_r 220,4). 1149000. [1139-30-6]. (-)- β -Cariofillene epossido. (1R,4R,6R,10S)-4,12,12-Trimetil-9-metilen-5-ossatriciclo[8.2.0.0^{4,6}]decano.

Cristalli fini, incolori con grumi.

p.f.: tra 62 °C e 63 °C.

Il cariofillene ossido usato in gas cromatografia soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Trementina essenza, tipo Pinus pinaster (1627)*.

Il contenuto non è inferiore al 99,0 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Carminio indaco. C₁₆H₈N₂Na₂O₈S₂. (M_r 466,3). 1045600. [860-22-0]. Schultz No. 1309. Colour Index No. 73015. Disodio 3,3'-dioxo-2,2'-bisindoliliden-5,5'-disolfonato. E 132.

Generalmente contiene sodio cloruro.

Polvere blu o blu-violetta o granuli blu con lucentezza color rame, moderatamente solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool. E' precipitato da una soluzione acquosa per aggiunta di sodio cloruro.

Carminio indaco soluzione. 1045601.

Ad una miscela di 10 ml di *acido cloridrico R* e 990 ml di *acido solforico esente da azoto R* (200 g/l) aggiungere 0,2 g di *carminio indaco R*.

La soluzione soddisfa al saggio seguente:

Aggiungere 10 ml a una soluzione di 1,0 mg di *potassio nitrato R* in 10 ml di *acqua R*, aggiungere rapidamente 20 ml di *acido solforico esente da azoto R* e scaldare fino all'ebollizione. La colorazione blu scompare entro 1 min.

Carminio indaco soluzione R1. 1045602.

Disciogliere 4 g di *carminio indaco R* in circa 900 ml di *acqua R* aggiunti in diverse porzioni. Aggiungere 2 ml di *acido solforico R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Porre in una beuta a collo largo da 100 ml, 10,0 ml di *soluzione standard di nitrato (NO₃ 100 ppm) R*, 10 ml di *acqua R*, 0,05 ml della *carminio indaco soluzione R1* e in una sola aggiunta, ma con cautela, 30 ml di *acido solforico R*. Titolare la soluzione immediatamente, usando la *carminio indaco soluzione R1*, fino ad ottenere una colorazione blu stabile.

Il numero di millilitri usati, *n*, equivale a 1 mg di NO₃.

Carrubo gomma, semi di. 1104500.

Endosperma macinato delle nocelle del frutto di *Ceratonia siliqua* L. Taub.

Polvere bianca contenente dal 70 per cento all'80 per cento di una gomma solubile in acqua consistente principalmente di galattomannoglicone.

Carta al, alla, cartina al, alla. Vedere al nome del reattivo di cui è impregnata.

Carta per cromatografia. 1150900.

Carta sottile di cellulosa pura con una superficie liscia e uno spessore di circa 0,2 mm.

Separazione cromatografica. A 2 strisce di carta per cromatografia *R* applicare separatamente 2-5 µl di soluzione in esame (a) e di soluzione in esame (b) delle soluzioni per il saggio di prestazione della cromatografia su carta *R*. Eluire per un percorso pari a tre quarti dell'altezza della carta, usando una miscela di volumi uguali di metanolo *R* e acqua *R*. Lasciare essiccare e determinare la distribuzione della radioattività usando un adatto rivelatore. La carta è soddisfacente se il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a) mostra una singola macchia radioattiva con un valore di R_f nell'intervallo tra 0,8 e 1,0 e il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) mostra una singola macchia radioattiva al punto di applicazione (valore di R_f tra 0,0 e 0,1).

Cartina all'argento-manganese. Vedere manganese-argento cartina *R*.

Cartina azzurra al tornasole. Vedere tornasole cartina blu *R*.

Cartina rossa al tornasole. Vedere tornasole cartina rossa *R*.

Carvacrolo. $C_{10}H_{14}O$. (M_r 150,2). 1016400. [499-75-2]. 5-Isopropil-2-metilfenolo.

Liquido brunastro, praticamente insolubile in acqua, solubilissimo in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,975.

n_D^{20} : circa 1,523.

p.e.: circa 237 °C.

Il carvacrolo usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza* (0405).

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g in circa 10 ml di acetone *R*.

L'area del picco principale non è inferiore al 95,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto. Trascurare i picchi dovuti all'acetone.

Carvone. $C_{10}H_{14}O$. (M_r 150,2). 1016500. [2244-16-8]. (*S*)-*p*-Menta-6,8-dien-2-one. (+)-2-Metil-5-(1-metiletenil)-2-cicloesesen-1-one.

Liquido praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,965.

n_D^{20} : circa 1,500.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 61.

p.e.: circa 230 °C.

Il carvone utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza* (0405) usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Caseina. 1016600. [9000-71-9].

Miscela di fosfoproteine correlate ottenute dal latte.

Polvere amorfa o granuli bianchi, molto poco solubili in acqua e nei solventi organici non polari. E' solubile in acido cloridrico concentrato dando luogo ad una soluzione violetto pallido. Forma sali con acidi e basi. Il suo punto isoelettrico è a pH 4,7 circa. Le soluzioni alcaline sono levogire.

Catalpolo. $C_{15}H_{22}O_{10}$. (M_r 362,3). 1142300. [2415-24-9]. (1a*S*,1b*S*,2*S*,5a*R*,6*S*,6a*S*)-6-Idrossi-1a-(idrossimetil)-1a,1b,2,5a,6,6a-esaidroossiren[4,5]ciclopenta[1,2-*c*]piran-2-il-β-D-glucopiranoside.

p.f.: da 203 °C a 205 °C.

Catechina. $C_{15}H_{14}O_6 \cdot xH_2O$. (M_r 290,3 per la sostanza anidra). 1119000. [154-23-4]. (+)-(2*R*,3*S*)-2-(3,4-Diidrossifenil)-3,4-diidro-2*H*-cromen-3,5,7-triolo. Catecolo. Cianidanolo. Cianidolo.

Catolita per focalizzazione isoelettrica pH da 3 a 5. 1113100. β-Alanina 0,1 M.

Disciogliere 8,9 g di β-alanina *R* in acqua *R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Cefalina. 1017200.

A 0,5-1 g di cervello bovino essiccato con acetone, polvere *R* aggiungere 20 ml di acetone *R* e lasciare a riposo per 2 h. Centrifugare a 500 g per 2 min e decantare il liquido soprannatante. Essiccare il residuo a pressione ridotta; al materiale essiccato aggiungere 20 ml di cloroformio *R* e lasciare a riposo per 2 h, agitando frequentemente. Rimuovere il materiale solido per filtrazione o centrifugazione ed evaporare il cloroformio a pressione ridotta. Sospendere il residuo in 5-10 ml di una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro *R*.

I solventi usati per preparare il reattivo dovrebbero contenere un idoneo antiossidante, per esempio, 0,02 g/l di butilidrossianisolo.

Conservare congelato o liofilizzato ed usare entro 3 mesi.

Cefelina dicloridrato. $C_{28}H_{40}Cl_2N_2O_4 \cdot 7H_2O$. (M_r 666). 1017100. [5884-43-5]. (R)-1-[(2S,3R,11bS)-3-Etil-1,3,4,6,7,11b-esaidro-9,10-dimetossi-2H-benzo[a]chinolizin-2-ilmetil]-1,2,3,4-tetraidro-7-metossiisochinolin-6-olo cloridrato eptaidrato.

Polvere cristallina da bianca a giallastra, molto solubile in acqua, solubile in acetone e in alcool.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 25, determinato su una soluzione 20 g/l.

Cellulosa per cromatografia. 1016800. [9004-34-6].

Polvere omogenea, bianca, fine, con una dimensione media delle particelle inferiore a 30 μm .

Preparazione di uno strato sottile. Sospendere 15 g in 100 ml di acqua R e omogenizzare in un miscelatore elettrico per 60 s. Rivestire le lastre, accuratamente pulite, con uno strato di 0,1 mm di spessore, usando un dispositivo appropriato. Lasciar seccare all'aria.

Cellulosa per cromatografia R1. 1016900.

Cellulosa microcristallina. Polvere omogenea, bianca, fine, con una dimensione media delle particelle inferiore a 30 μm .

Preparazione di uno strato sottile. Sospendere 25 g in 90 ml di acqua R e omogenizzare in un miscelatore elettrico per 60 s. Rivestire le lastre, accuratamente pulite, con uno strato di 0,1 mm di spessore, usando un dispositivo appropriato. Lasciar seccare all'aria.

Cellulosa per cromatografia F₂₅₄. 1017000.

Cellulosa F₂₅₄ microcristallina. Polvere omogenea, bianca, fine, con una dimensione media delle particelle inferiore a 30 μm , contenente un indicatore di fluorescenza avente un'intensità ottimale a 254 nm.

Preparazione di uno strato sottile. Sospendere 25 g in 100 ml di acqua R e omogenizzare usando un miscelatore elettrico per 60 s. Rivestire le lastre, accuratamente pulite, con uno strato di 0,1 mm di spessore, usando un dispositivo appropriato. Lasciar seccare all'aria.

Cerio e ammonio nitrato. $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$. (M_r 548,2). 1005000. [16774-21-3].

Polvere cristallina giallo-arancione o cristalli trasparenti arancioni, solubili in acqua.

Cerio e ammonio solfato. $(NH_4)_4Ce(SO_4)_4 \cdot 2H_2O$. (M_r 633). 1005100. [10378-47-9].

Polvere cristallina o cristalli giallo-arancione, solubili lentamente in acqua.

Cerio(-ico) solfato. $Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O$. (M_r 404,3). 1017300. [123333-60-8]. Cerio(IV) solfato; solfato cerico.

Polvere cristallina o cristalli, giallo o giallo-arancione, molto poco solubili in acqua, lentamente solubili negli acidi diluiti.

Cerio(-oso) nitrato. $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$. (M_r 434,3). 1017400. [10294-41-4]. Cerio trinitrato esaidrato.

Polvere cristallina, incolore o giallo pallido, molto solubile in acqua e in alcool.

Cervello bovino essiccato con acetone, polvere. 1061300.

Tagliare in piccoli pezzi un cervello bovino fresco dopo averlo privato del tessuto connettivo e vascolare. Porre in acetone R per una deidratazione preliminare. Completare la deidratazione mescolando in un mortaio 30 g di questo materiale con porzioni successive, ciascuna da 75 ml, di acetone R fino ad ottenere una polvere secca dopo la filtrazione. Essiccare a 37 °C per 2 h o fino a scomparsa dell'odore di acetone.

Cesio cloruro. CsCl. (M_r 168,4). 1014200. [7647-17-8].

Polvere bianca, solubilissima in acqua, molto solubile in metanolo, praticamente insolubile in acetone.

Cetiltrimetilammonio bromuro. $C_{19}H_{42}BrN$. (M_r 364,5). 1017700. [57-09-0]. Cetrinmonio bromuro. N-Esadecil-N,N,N-trimetilammonio bromuro.

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua, molto solubile in alcool.

p.f.: circa 240 °C.

Cetostearile sodico solfato. Vedere sodio cetostearile solfato R.

Cetrimide. 1017600. [8044-71-1]. Vedere la monografia Cetrimide (0378).

Chinidina. $C_{20}H_{24}N_2O_2$. (M_r 324,4). 1074000. [56-54-2]. (S)-(6-Metossichinol-4-il)[(2R,4S,5R)-5-vinilchinuclidin-2-il]metanolo.

Cristalli bianchi, molto poco solubili in acqua, moderatamente solubili in alcool, poco solubili in etere e in metanolo.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 260, determinato su una soluzione 10 g/l in etanolo R.

p.f.: circa 172 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Chinidina solfato. 1109500. Vedere la monografia Chinidina solfato (0017).

Chinidrone. $C_{12}H_{10}O_4$. (M_r 218,2). 1073900. [106-34-3]. Composto equimolare di 1,4-benzochinone e idrochinone.

Cristalli lucenti o polvere cristallina, verde scuro, poco solubili in acqua, moderatamente solubili in acqua calda, solubili in alcool, in ammoniacca concentrata e in etere.

p.f.: circa 170 °C.

Chinina. $C_{20}H_{24}N_2O_2$. (M_r 324,4). 1074100. [130-95-0]. (R)-(6-Metossichinol-4-il)[(2S,4S,5R)-5-vinilchinuclidin-2-il]metanolo.

Polvere microcristallina, bianca, molto poco solubile in acqua, poco solubile in acqua bollente, solubilissima in etanolo, solubile in etere.

$[\alpha]_D^{20}$: circa -167, determinato su una soluzione 10 g/l in etanolo R.

p.f.: circa 175 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Chinina cloridrato. 1074200. [6119-47-7]. Vedere la monografia *Chinina cloridrato* (0018).

Chinina solfato. 1074300. [6119-70-6]. Vedere la monografia *Chinina solfato* (0019).

Cialotrina. $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$. (M_r 449,9). 1125000. [91465-08-6].

p.e.: da 187 °C a 190 °C.

p.f.: circa 49 °C.

Può essere utilizzata un'ideale soluzione di riferimento certificata (10 ng/μl in cicloesano).

Cianocobalamina. 1023600. [68-19-9]. Vedere la monografia *Cianocobalamina* (0547).

Cianogeno bromuro soluzione. 1023700. [506-68-3].

Aggiungere goccia a goccia, raffreddando, *ammonio tiocianato* 0,1 M ad *acqua di bromo R* fino alla scomparsa della colorazione gialla. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Cianoguanidina. $C_2H_4N_4$. (M_r 84,1). 1023800. [461-58-5]. Diciandiammide. 1-Cianoguanidina.

Polvere cristallina, bianca, moderatamente solubile in acqua e in alcool, praticamente insolubile in etere e in diclorometano.

p.f.: circa 210 °C.

Cicloesano. C_6H_{12} . (M_r 84,2). 1023900. [110-82-7].

Liquido infiammabile, incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,78.

p.e.: circa 80,5 °C.

Il cicloesano utilizzato in spettrofotometria soddisfa agli ulteriori requisiti seguenti:

Trasmittanza minima (2.2.25) determinata usando *acqua R* come bianco:

45 per cento a 220 nm,

70 per cento a 235 nm,

90 per cento a 240 nm,

98 per cento a 250 nm.

Cicloesano R1. 1023901.

Soddisfa ai requisiti prescritti per il *cicloesano R* e all'ulteriore requisito seguente:

La fluorescenza, misurata a 460 nm, per illuminazione con un fascio di luce eccitante a 365 nm, non è più intensa di quella di una soluzione contenente 0,002 ppm di *chinina R* in *acido solforico 0,05 M*.

Cicloesilammina. $C_6H_{13}N$. (M_r 99,2). 1024000. [108-91-8]. Liquido incolore, solubile in acqua, miscibile con i comuni solventi organici.

n_D^{20} : circa 1,460.

p.e.: da 134 °C a 135 °C.

Cicloesilmetanolo. $C_7H_{14}O$. (M_r 114,2). 1135200. [100-49-2]. Cicloesilcarbinolo.

Liquido con un leggero odore di canfora, solubile in alcool.

n_D^{25} : 1,464.

p.e.: circa 185 °C.

p-Cimene. $C_{10}H_{14}$. (M_r 134,2). 1113400. [99-87-6]. 1-Isopropil-4-metilbenzene.

Liquido incolore, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,858.

n_D^{20} : circa 1,4895.

p.e.: da 175 °C a 178 °C.

Il p-cimene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza* (0405).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 96,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto.

Cinconidina. $C_{19}H_{22}N_2O$. (M_r 294,4). 1020400. [485-71-2]. (R)-(Chinol-4-il)[(2S,4S,5R)-5-vinilchinuclidin-2-il]metanolo.

Polvere bianca, cristallina, molto poco solubile in acqua e in etere di petrolio, solubile in alcool, poco solubile in etere.

$[\alpha]_D^{20}$: da -105 a -110, determinato su una soluzione 50 g/l in *alcool R*.

p.f.: circa 208 °C con decomposizione.

Conservare al riparo dalla luce.

Cinconina. $C_{19}H_{22}N_2O$. (M_r 294,4). 1020500. [118-10-5]. (S)-(Chinol-4-il)[(2R,4S,5R)-5-vinilchinuclidin-2-il]metanolo.

Polvere cristallina bianca, molto poco solubile in acqua, moderatamente solubile in alcool e in metanolo, poco solubile in etere.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 225 a + 230, determinato su una soluzione 50 g/l in alcool R.

p.f.: circa 263 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Cineolo. C₁₀H₁₈O. (*M_r* 154,3). 1020600. [470-82-6]. 1,8-Cineolo. Eucaliptolo. 1,8-Epossip-mentano.

Liquido incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con etanolo e con etere.

d_{20}^{20} : da 0,922 a 0,927.

n_D^{20} : da 1,456 a 1,459.

Punto di solidificazione (2.2.18). Da 0 °C a 1 °C.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Da 174 °C a 177 °C.

Fenolo. Agitare 1 g con 20 ml di acqua R. Lasciare separare e aggiungere a 10 ml dello strato acquoso 0,1 ml di ferro(-ico) cloruro soluzione RI. Non compare alcuna colorazione violetta.

Olio di trementina. Disciogliere 1 g in 5 ml di alcool al 90 per cento V/V R. Aggiungere goccia a goccia acqua di bromo R preparata di recente. Non sono necessari più di 0,5 ml per far virare la colorazione al giallo persistente per 30 min.

Residuo all'evaporazione. Non superiore allo 0,05 per cento. A 10,0 ml aggiungere 25 ml di acqua R, evaporare a b.m. ed essiccare il residuo fino a massa costante a 100-105 °C.

Il cineolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza* (0405) usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

1,4-Cineolo. C₁₀H₁₈O. (*M_r* 154,3). 1142500. [470-67-7]. 1-Metil-4-(1-metiletil)-7-ossabicyclo[2.2.1]eptano.

1-Isopropil-4-metil-7-ossobicyclo[2.2.1]eptano.

Liquido incolore.

d_4^{20} : 0,900 circa.

n_D^{20} : 1,445 circa.

p.e.: 173 °C circa.

Cinnamile acetato. C₁₁H₁₂O₂. (*M_r* 176,2). 1124700. [103-54-8]. 3-Fenil-2-propen-1-ile acetato.

n_D^{20} : circa 1,542.

p.e.: circa 262 °C.

Il cinnamile acetato utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Cannella di Cina essenza* (1496).

Il contenuto non è inferiore al 99,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Cipermetrina. C₂₂H₁₉Cl₂NO₃. (*M_r* 416,3). 1125100. [52315-07-8].

p.e.: da 170 °C a 195 °C.

p.f.: da 60 °C a 80 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

L-Cisteina. C₃H₇NO₂S. (*M_r* 121,1). 1024200. [52-90-4].

Polvere, molto solubile in acqua, in alcool e in acido acetico, praticamente insolubile in acetone.

Cisteina cloridrato. 1024300. [7048-04-6]. Vedere la monografia *Cisteina cloridrato monoidrato* (0895).

L-Cistina. C₆H₁₂N₂O₄S₂. (*M_r* 240,3). 1024400. [56-89-3].

Polvere cristallina, bianca, praticamente insolubile in acqua e in alcool. E' solubile nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini. Si decompone a 250 °C.

$[\alpha]_D^{20}$: da -218 a -224, determinato in acido cloridrico 1 M.

Citrale. C₁₀H₁₆O. (*M_r* 152,2). 1020800. [5392-40-5]. Miscela di (2E)- e (2Z)-3,7-Dimetilotta-2,6-dienale.

Liquido giallo chiaro, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool, con etere e con glicerolo.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando gel di silice GF₂₅₄ R come sostanza di rivestimento. Deporre sulla lastra 10 μl di una soluzione 1 g/l in toluene R.

Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 15 volumi di etile acetato R e 85 volumi di toluene R. Lasciare asciugare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Il citrale usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Citronella essenza* (1609).

Il contenuto di citrale (nerale + geraniale) non è inferiore al 95,0 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Citronellale. C₁₀H₁₈O. (*M_r* 154,3). 1113300. [106-23-0]. 3,7-Dimetil-6-ottenale.

Molto poco solubile in acqua, solubile in alcool.

d_{20}^{20} : da 0,848 a 0,856.

n_D^{20} : circa 1,446.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 11,50.

Il citronellale usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Citronella essenza* (1609).

Il contenuto non è inferiore al 95,0 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Citronellile acetato. $C_{12}H_{22}O_2$. (M_r 198,3). 1135000. [150-84-5]. 3,7-Dimetil-6-otten-1-il acetato.

d_{20}^{20} : circa 0,890.

n_D^{20} : circa 1,443.

p.e.: circa 229 °C.

Il citronellile acetato usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Citronella essenza* (1609).

Il contenuto non è inferiore al 97,0 per cento calcolato con la procedura di normalizzazione.

Conservare in contenitore ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Citronello. $C_{10}H_{20}O$. (M_r 156,3). 1134900. [106-22-9]. 3,6-Dimetilott-6-en-1-olo.

Liquido limpido, incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,857.

n_D^{20} : circa 1,456.

p.e.: da 220 °C a 222 °C.

Il citronello usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Citronella essenza* (1609).

Il contenuto non è inferiore al 95 per cento calcolato con la procedura di normalizzazione.

Conservare in contenitore ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Citroptene. $C_{11}H_{10}O_4$. (M_r 206,2). 1021300. [487-06-9]. Limettina. 5,7-Dimetossi-2H-1-benzopirano-2-one.

Aghi praticamente insolubili in acqua, in etere e in etere di petrolio, molto solubili in acetone e in alcool.

p.f.: 145 °C circa.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento. Deposare sulla lastra 10 µl di una soluzione 1 g/l in *toluene R*. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 15 volumi di *etile acetato R* e 85 volumi di *toluene R*. Lasciare asciugare

la lastra all'aria e esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Clobetasolo propionato. $C_{25}H_{32}ClFO_5$. (M_r 467,0). 1097700. [25122-46-7]. 21-Cloro-9-fluoro-11β,17-diidrossi-16β-metilpregna-1,4-dien-3,20-dione 17-propionato.

Polvere cristallina bianca, insolubile in acqua, solubile in alcool e in acetone.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 104 (in diossano).

p.f.: circa 196 °C.

Clofenotano. Vedere la monografia *Clofenotano*.

Cloralio idrato. 1017900. [302-17-0]. Vedere la monografia *Cloralio idrato* (0265).

Cloralio idrato soluzione. 1017901.

Disciogliere 80 g di *cloralio idrato R* in 20 ml di *acqua R*.

Cloramina. 1018000. [7080-50-4]. Vedere la monografia *Cloramina* (0381).

Cloramina soluzione. 1018001.

Soluzione 20 g/l. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Cloramina soluzione R1. 1018002.

Soluzione 0,1 g/l di *cloramina R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Cloramina soluzione R2. 1018003.

Soluzione 0,2 g/l. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Clordano. $C_{10}H_6Cl_8$. (M_r 409,8). 1124100. [12789-03-6].

p.e.: circa 175 °C.

p.f.: circa 106 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento di grado tecnico (10 ng/µl in iso-ottano).

Clordiazepossido. 1113200. [58-25-3]. Vedere la monografia *Clordiazepossido* (0656).

Clorfenvinfos. $C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$. (M_r 359,6). 1124200. [470-90-6].

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/µl in cicloesano).

2-Cloro-2-desossi-D-glucosio. $C_6H_{11}ClO_5$. (M_r 198,6). 1134700. [14685-79-1].

Polvere cristallina bianca, molto igroscopica, solubile in acqua e in dimetilsolfossido, praticamente insolubile in alcool.

3-Cloro-2-metilnilina. C_7H_8ClN . (M_r 141,6). 1139400. [87-60-5]. 6-Cloro-2-toluidina.

Non miscibile con acqua, leggermente solubile in etanolo.

d_{20}^{20} : circa 1,171.

n_D^{20} : circa 1,587.

p.e.: circa 115 °C.

p.f.: circa 2 °C.

Cloroacetanilide. C_8H_8ClNO . (M_r 169,6). 1018100. [539-03-7]. 4'-Cloroacetanilide.

Polvere cristallina, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

p.f.: circa 178 °C.

Cloroanilina. C_6H_6ClN . (M_r 127,6). 1018300. [106-47-8]. 4-Cloroanilina.

Cristalli solubili in acqua calda, molto solubili in alcool e in etere.

p.f.: circa 71 °C.

2-Cloro-4-nitroanilina. $C_6H_5ClN_2O_2$. (M_r 172,6). 1018800. [121-87-9].

Polvere cristallina gialla, molto solubile in metanolo.
p.f.: circa 107 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

4-Clorobenzensolfonammide. $C_6H_6ClNO_2S$. (M_r 191,6). 1097400. [98-64-6].

Polvere bianca.

p.f.: circa 145 °C.

Clorobutanolo. 1018400. [57-15-8]. Vedere la monografia *Clorobutanolo anidro* (0382).

2-Cloroetanolo. C_2H_5ClO . (M_r 80,5). 1097500. [107-07-3].

Liquido incolore, solubile in alcool.

d_{20}^{20} : circa 1,197.

n_D^{20} : circa 1,442.

p.e.: circa 130 °C.

p.f.: circa -89 °C.

2-Cloroetanolo soluzione. 1097501.

Disciogliere 125 mg di 2-cloroetanolo R in 2-propanololo R e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Diluire 5 ml della soluzione a 50 ml con 2-propanololo R.

(2-Cloroetil)dietilammina cloridrato. $C_6H_{15}Cl_2N$. (M_r 172,1). 1018500. [869-24-9].

Polvere cristallina bianca, solubilissima in acqua e in metanolo, molto solubile in diclorometano, praticamente insolubile in esano.

p.f.: circa 211 °C.

Cloroetilammina cloridrato. $C_2H_7Cl_2N$. (M_r 116,0). 1124300. [870-24-6]. 2-Cloroetanammina cloridrato.

p.f.: circa 145 °C.

Clorofenolo. C_6H_5ClO . (M_r 128,6). 1018900. [106-48-9]. 4-Clorofenolo.

Cristalli incolore o quasi incolore, poco solubili in acqua, solubilissimi in alcool, in etere e nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

p.f.: circa 42 °C.

Cloroformio. $CHCl_3$. (M_r 119,4). 1018600. [67-66-3]. Triclorometano.

Liquido incolore, limpido, poco solubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : da 1,475 a 1,481.

p.e.: circa 60 °C.

Il cloroformio contiene lo 0,4-1,0 per cento *m/m* di etanolo.

Etanolo. Introdurre 1,00 g (*m* g) in una beuta con tappo a smeriglio. Aggiungere 15,0 ml di *nitrocromico reattivo R*, chiudere la beuta, agitare energicamente per 2 min e lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere 100 ml di *acqua R* e 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R*. Dopo 2 min titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, utilizzando 1 ml di *amido soluzione R* come indicatore, fino ad ottenere una colorazione verde chiaro (n_1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*). Effettuare una prova in bianco (n_2 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*). Calcolare la percentuale di etanolo utilizzando l'espressione:

$$\frac{(n_2 - n_1)0,115}{m}$$

Cloroformio acidificato. 1018601.

A 100 ml di *cloroformio R* aggiungere 10 ml di *acido cloridrico R*. Agitare, lasciare a riposo e separare i due strati.

Cloroformio esente da etanolo. 1018602.

Agitare 200 ml di *cloroformio R* con quattro porzioni, da 100 ml ciascuna, di *acqua R*. Essiccare su 20 g di *sodio solfato anidro R* per 24 h. Distillare il filtrato su 10 g di *sodio solfato anidro R*. Eliminare i primi 20 ml di distillato. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Cloroformio deuterato. C^2HCl_3 . (M_r 120,4). 1025000. [865-49-6]. (2H)-Cloroformio. Cloroformio-*d*.

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,7 per cento.

Liquido incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con acetone, con alcool e con etere. Può essere stabilizzato da una lamina d'argento.

d_{20}^{20} : circa 1,51.

n_D^{20} : circa 1,445.

p.e.: circa 60 °C.

Acqua e deuterio ossido: Non più dello 0,05 per cento.

Clorofornio stabilizzato con amilene. CHCl_3 . (M_r 119,4). 1018700.

Liquido incolore, limpido, poco solubile in acqua, miscibile con alcool.

Acqua. Non più dello 0,05 per cento.

Residuo all'evaporazione. Non superiore allo 0,001 per cento.

Trasmittanza minima (2.2.25), determinata usando *acqua R* come bianco:

non inferiore al 50 per cento a 255 nm,

non inferiore all'80 per cento a 260 nm,

non inferiore al 98 per cento a 300 nm.

Determinazione quantitativa. Non meno del 99,8 per cento di CHCl_3 , determinato mediante gas cromatografia.

3-Cloropropan-1,2-diolo. $\text{C}_3\text{H}_7\text{ClO}_2$. (M_r 110,5). 1097600. [96-24-2].

Liquido incolore, solubile in acqua, in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 1,322.

n_D^{20} : circa 1,480.

p.e.: circa 213 °C.

Clorotiazide. 1112100. [58-94-6]. Vedere la monografia *Clorotiazide* (0385).

Clorotrimetilsilano. $\text{C}_3\text{H}_9\text{ClSi}$. (M_r 108,6). 1019300. [75-77-4].

Liquido incolore, limpido, fumante all'aria.

d_{20}^{20} : circa 0,86.

n_D^{20} : circa 1,388.

p.e.: circa 57 °C.

Clorpirifos. $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{NO}_3\text{PS}$. (M_r 350,6). 1124400. [2921-88-2].

p.e.: circa 200 °C.

p.f.: da 42 °C a 44 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Clorpirifos-metile. $\text{C}_7\text{H}_7\text{Cl}_3\text{NO}_3\text{PS}$. (M_r 322,5). 1124500. [5598-13-0].

p.f.: da 45 °C a 47 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Cobalto cloruro. $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. (M_r 237,9). 1021600. [7791-13-1].

Polvere cristallina rossa o cristalli rosso scuro, solubilissimi in acqua, solubili in alcool.

Cobalto nitrato. $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. (M_r 291,0). 1021700. [10026-22-9].

Cristalli piccoli rosso granato, solubilissimi in acqua.

Codeina. 1021800. [6059-47-8]. Vedere la monografia *Codeina* (0076).

Codeina fosfato. 1021900. [52-28-8]. Vedere la monografia *Codeina fosfato emiidrato* (0074).

Colesterolo. 1019400. [57-88-5]. Vedere la monografia *Colesterolo* (0993).

Colina cloruro. $\text{C}_5\text{H}_{14}\text{ClNO}$. (M_r 139,6). 1019500. [67-48-1]. (2-Idrossietil)trimetilammonio cloruro.

Cristalli deliquescenti, solubilissimi in acqua e in alcool.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Suxametonio cloruro* (0248), deponendo 5 μl di una soluzione 0,2 g/l in *metanolo R*. Il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Colonna concentrica per gas cromatografia. 1135100.

Sistema disponibile in commercio, costituito da due tubi concentrici. Il tubo esterno è impaccato con setacci molecolari, il tubo interno, invece, è impaccato con una miscela di un polimero poroso. La principale applicazione di questo sistema consiste nella separazione di sostanze allo stato gassoso.

Colza, olio. Vedere *olio di colza R*.

Coniugato fluorescente di sierimmune rabico. Vedere *sierimmune rabico coniugato fluorescente R*.

Cortisone acetato. 1097800. [50-04-4]. Vedere la monografia *Cortisone acetato* (0321).

Coumafos. $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClO}_5\text{PS}$. (M_r 362,8). 1124800. [56-72-4]. p.f.: da 91 °C a 92 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

Cresolo. $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$. (M_r 108,1). 1022700. [95-48-7]. *o*-Cresolo. 2-Metilfenolo.

Cristalli o liquido super-raffreddato che diventa scuro per esposizione alla luce e all'aria, miscibile con etanolo e con etere, solubile in circa 50 parti di acqua e solubile nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

d_{20}^{20} : circa 1,05.

n_D^{20} : da 1,540 a 1,550.

p.e.: circa 190 °C.

Punto di congelamento (2.2.18). Non inferiore a 30,5 °C.

Residuo all'evaporazione. Non più dello 0,1 per cento *m/m*, determinato mediante evaporazione a b.m. e essiccamento in stufa a 100-105 °C.

Distillare prima dell'uso.

Conservare al riparo dalla luce, dall'umidità e dall'ossigeno e distillare prima dell'uso.

Crisantamina. $C_{21}H_{21}ClO_{11}$. (M_r 485,5). 1134800. [7084-24-4]. Curomanina cloruro. 2-(3,4-Diidrossifenil)-3-(β -D-glucopiranosil)ossi-5,7-diidrossi-1-benzopirilio cloruro.

Polvere cristallina bruno-rossastra, solubile in acqua e in alcool.

Assorbanza (2.2.25). Una soluzione 0,01 g/l in una miscela di 1 volume di *acido cloridrico R* e 999 volumi di *metanolo R* mostra un massimo di assorbimento a 528 nm.

Cristal violetto. $C_{25}H_{30}ClN_3$. (M_r 408,0). 1022900. [548-62-9]. Schultz No. 78. Colour Index No. 42555. Esametipararosanilinio cloruro, Violetto di genziana.

Polvere cristalli verde scuro, solubili in acqua e in alcool.

Cristal violetto soluzione. 1022901. Violetto di genziana soluzione.

Disciogliere 0,5 g di *cristal violetto R* in *acido acetico anidro R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Saggio di sensibilità. A 50 ml di *acido acetico anidro R* aggiungere 0,1 ml di *cristal violetto soluzione*. Per aggiunta di 0,1 ml di *acido perclorico 0,1 M* la soluzione, di colore porpora-bluastro, vira al verde-bluastro.

Cromazurolo S. $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$. (M_r 605). 1019600. [1667-99-8]. Schultz No. 841. Colour Index No. 43825. Trisodio 5-[(3-carbossilato-5-metil-4-oxocicloesa-2,5-dien-1-ilidene)(2,6-dicloro-3-solfonato-fenil)metil]-2-idrossi-3-metilbenzoato.

Polvere nero-brunastra, solubile in acqua, poco solubile in alcool.

Cromo(ico) tricloruro esaidrato. $[Cr(H_2O)_4Cl_2]Cl \cdot 2H_2O$. (M_r 266,5) 1104800. [10060-12-5].

Polvere cristallina verde scuro, igroscopica, molto tossica.

Conservare al riparo dall'umidità e da agenti ossidanti.

Cromo triossido. CrO_3 . (M_r 100,0). 1019900. [1333-82-0]. Aghi rosso-brunastrati scuro o granuli, deliquescenti, solubilissimi in acqua.

Conservare in un recipiente di vetro ermeticamente chiuso.

Cromo(ico) e potassio solfato. Vedere *allume cromico R*.

Cromotropo II B. $C_{16}H_9N_3Na_2O_{10}S_2$. (M_r 513,4). 1020200. [548-80-1]. Schultz No. 67. Colour Index No. 16575. Disodio 4,5-diidrossi-3-(4-nitrofenilazo)naftalen-2,7-disolfonato.

Polvere marrone-rossiccia, solubile in acqua dando luogo ad una colorazione rosso-giallastra, praticamente insolubile in alcool.

Cromotropo II B soluzione. 1020201.

Soluzione 0,05 g/l in *acido solforico R*.

Cumarina. $C_9H_6O_2$. (M_r 146,1). 1124900. [91-64-5]. 2H-Cromen-2-one. 2H-1-Benzopiran-2-one.

Polvere incolore cristallina o cristalli ortorombici o rettangolari, solubilissimi in acqua bollente, solubili in alcool. Si scioglie nelle soluzioni di idrossidi alcalini. p.f.: da 68 °C a 70 °C.

La cumarina utilizzata in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Cannella di Cina essenza* (1496).

Il contenuto non è inferiore al 98,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Cupri-citrica soluzione. 1023100.

Disciogliere 25 g di *rame(-ico) solfato R*, 50 g di *acido citrico R* e 144 g di *sodio carbonato anidro R* in *acqua R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Cupri-citrica soluzione R1. 1023200.

Disciogliere 25 g di *rame(-ico) solfato R*, 50 g di *acido citrico R* e 144 g di *sodio carbonato anidro R* in *acqua R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Apportare delle modifiche alla soluzione così da soddisfare agli ulteriori requisiti seguenti:

a) A 25,0 ml aggiungere 3 g di *potassio ioduro R*. Aggiungere con cautela e in piccole quantità 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando 0,5 ml di *amido soluzione R* come indicatore, aggiunto alla fine della titolazione.

Nella titolazione sono utilizzati 24,5-25,5 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*.

b) Diluire 10,0 ml a 100,0 ml con *acqua R* e mescolare. A 10,0 ml della soluzione, aggiungere 25,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M R* e scaldare per 1 h a b.m. Raffreddare, portare al volume iniziale con *acqua R* e titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, usando 0,1 ml di *fenoltaleina soluzione R1* come indicatore.

Nella titolazione sono utilizzati 5,7-6,3 ml di *sodio idrossido 0,1 M*.

c) Diluire 10,0 ml a 100,0 ml con *acqua R* e mescolare. Titolare 10,0 ml della soluzione con *acido cloridrico 0,1 M*, usando 0,1 ml di *fenolfaleina soluzione R1* come indicatore.

Nella titolazione sono utilizzati 6,0-7,5 ml di *acido cloridrico 0,1 M*.

Cupri-citrico reattivo. Vedere *cupri-citrica soluzione R*.

Cupri-tartarica soluzione. 1023300. Potassio cupritartrato soluzione, Reattivo di Fehling.

Soluzione I. Disciogliere 34,6 g di *rame(-ico) solfato R* in *acqua R* e diluire a 500 ml con lo stesso solvente.

Soluzione II. Disciogliere 173 g di *sodio e potassio tartrato R* e 50 g di *sodio idrossido R* in 400 ml di *acqua R*. Scaldare all'ebollizione, lasciare raffreddare e diluire a 500 ml con *acqua esente da anidride carbonica R*.

Mescolare volumi uguali delle due soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Cupri-tartarica soluzione R2. 1023302. Potassio cupritartrato soluzione R2.

Mescolare 1 ml di una soluzione contenente 5 g/l di *rame(-ico) solfato R* e 10 g/l di *potassio tartrato R* con 50 ml di *sodio carbonato soluzione R1*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Cupri-tartarica soluzione R3. 1023303.

Mescolare uguali volumi di una soluzione (10 g/l) di *rame(-ico) solfato R* e una soluzione (20 g/l) di *sodio tartrato R*. A 1,0 ml della miscela aggiungere 50 ml di *sodio carbonato soluzione R2*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Cupri-tartarica soluzione R4. 1023304.

Soluzione I. *Rame solfato R* 150 g/l.

Soluzione II. Disciogliere 2,5 g di *sodio carbonato anidro R*, 2,5 g di *sodio potassio tartrato R*, 2,0 g di *sodio bicarbonato R* e 20,0 g di *sodio solfato anidro R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Mescolare 1 volume della soluzione I con 25 volumi della soluzione II immediatamente prima dell'uso.

Curcumina. $C_{21}H_{20}O_6$. (M_r 368,4). 1023500. [458-37-7]. 1,7-Bis(4-idrossi-3-metossifenil)hepta-1,6-dien-3,5-dione.

Polvere cristallina, bruno-arancione, praticamente insolubile in acqua, solubile in acido acetico glaciale, praticamente insolubile in etere.

p.f.: circa 183 °C.

Dantrone. $C_{14}H_8O_4$. (M_r 240,2). 1024500. [117-10-2]. 1,8-Diidrossiantrachinone. 1,8-Diidrossiantracen-9,10-dione.

Polvere cristallina arancione, praticamente insolubile in acqua, poco solubile in alcool, solubile nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

p.f.: 195 °C circa.

Il dantrone usato nella determinazione degli acidi sesquiterpenici nella monografia Valeriana radice (0453) soddisfa agli ulteriori requisiti seguenti:

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$: da 355 a 375, determinata a 500 nm in *potassio idrossido 1 M*.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Valeriana radice (0453)* alla stessa concentrazione della soluzione di riferimento. Il contenuto del dantrone non è inferiore al 95 per cento calcolato con la procedura di normalizzazione.

***o,p'*-DDD.** $C_{14}H_{10}Cl_4$. (M_r 320,0). 1125200. [53-19-0]. 1-(2-Clorofenil)-1-(4-clorofenil)-2,2-dicloroetano.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

***o,p'*-DDE.** $C_{14}H_8Cl_4$. (M_r 318,0). 1125400. [3424-82-6]. 1-(2-Clorofenil)-1-(4-clorofenil)-2,2-dicloroetilene.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

***o,p'*-DDT.** $C_{14}H_9Cl_5$. (M_r 354,5). 1125600. [789-02-6]. 1-(2-Clorofenil)-1-(4-clorofenil)-2,2,2-tricloroetano.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

***p,p'*-DDD.** $C_{14}H_{10}Cl_4$. (M_r 320,0). 1125300. [72-54-8]. 1,1-Bis(4-clorofenil)-2,2-dicloroetano.

p.e.: circa 193 °C.

p.f.: circa 109 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

***p,p'*-DDE.** $C_{14}H_8Cl_4$. (M_r 318,0). 1125500. [72-55-9]. 1,1-Bis(4-clorofenil)-2,2-dicloroetilene.

p.e.: da 316 °C a 317 °C.

p.f.: da 88 °C a 89 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

***p,p'*-DDT.** $C_{14}H_9Cl_5$. (M_r 354,5). 1125700. [50-29-3]. 1,1-Bis(4-clorofenil)-2,2,2-tricloroetano.

p.e.: circa 260 °C.

p.f.: da 108 °C a 109 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Decanale. $C_{10}H_{20}O$. (M_r 156,3). 1149200. [112-31-2]. Decile aldeide.

Liquido oleoso incolore, con un caratteristico odore di arancia, praticamente insolubile in acqua, solubile in cloroformio.

d_4^{20} : tra 0,825 e 0,829.

n_D^{20} : tra 1,420 e 1,430.

p.e.: tra 207 °C e 209 °C.

Il decanale usato in gas cromatografia soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa: esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancia dolce essenza (1811)*.

Il contenuto non è inferiore al 99 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Decano. C₁₀H₂₂. (M_r 142,3). 1024600. [124-18-5].

Liquido incolore, praticamente insolubile in acqua.

n_D^{20} : circa 1,411.

p.e.: circa 174 °C.

Decanolo. C₁₀H₂₂O. (M_r 158,3). 1024700. [112-30-1]. Alcool *n*-decilico.

Liquido viscoso, che solidifica a 6 °C circa, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool e in etere.

n_D^{20} : circa 1,436.

p.e.: circa 230 °C.

Deltametrina. C₂₂H₁₉Br₂NO₃. (M_r 505,2). 1125800. [52918-63-5].

p.e.: circa 300 °C.

p.f.: circa 98 °C.

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Demeclociclina cloridrato. 1145600.

Vedere *Demeclociclina cloridrato (0176)*.

Demetilflumazenil. C₁₄H₁₂FN₃O₃. (M_r 289,3). 1149300. [79089-72-8]. Etile 8-fluoro-6-osso-5,6-diidro-4*H*-imidazo[1,5-*a*] [1,4]benzodiazepin-3-carbossilato.

p.f.: 288 °C circa.

Aghi incolori, solubili in dimetilsolfossido e in metanolo a caldo.

2'-Desossiuridina. C₉H₁₂N₂O₅. (M_r 228,2). 1024800. [951-78-0]. 1-(2-Desossi-β-D-eritro-pentofuranosil)-1*H*,3*H*-pirimidin-2,4-dione.

p.f.: circa 165 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Iloxuridina (0669)*, deponendo 5 μl di una soluzione 0,25 g/l. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Destrano reticolato per cromatografia R2. 1025500.

Destrano in granuli reticolato con un intervallo di frazionamento idoneo per la separazione dei peptidi e

delle proteine con una massa molecolare relativa compresa tra 15×10^2 e 30×10^3 . I granuli, allo stato secco, hanno un diametro di 20-80 μm.

Destrano reticolato per cromatografia R3. 1025600.

Destrano in granuli reticolato con un intervallo di frazionamento idoneo per la separazione dei peptidi e delle proteine con una massa molecolare relativa compresa tra 4×10^3 e 15×10^4 . I granuli, allo stato secco, hanno un diametro di 40-120 μm.

Destrosio. 1025700. [50-99-7]. Vedere *glucosio R*.

Deuterio ossido. ²H₂O. (M_r 20,03). 1025300. [7789-20-0]. Acqua deuterata.

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,7 per cento.

d_{20}^{20} : circa 1,11.

n_D^{20} : circa 1,328.

p.e.: circa 101 °C.

Deuterio ossido R1. ²H₂O. (M_r 20,03). 1025301. [7789-20-0]. Acqua deuterata.

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,95 per cento.

Devarda lega. E' costituita da 50 parti di *rame R*, 45 parti di *alluminio R* e 5 parti di *zinco R*.

Polvere grigia, insolubile in acqua, parzialmente solubile in acido cloridrico e in sodio idrossido soluzione, solubile in acido nitrico.

3,3'-Diamminobenzidina tetracloridrato. C₁₂H₁₈Cl₄N₄·2H₂O. (M_r 396,1). 1098000. [7411-49-6]. 3,3',4,4'-Difenil-tetrammina tetracloridrato diidrato.

Polvere quasi bianca o leggermente rosata, solubile in acqua.

p.f.: circa 280 °C con decomposizione.

Diammonio 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-solfonato). C₁₈H₂₄N₆O₆S. (M_r 548,7). 1153000. [30931-67-0]. ABTS. Diammonio 2,2'-(diazanediliden)bis[3-etil-2,3-diidrobenzotiazol-6-solfonato].

Substrato cromogenico adatto all'uso nel saggio ELISA.

Compresse verdi, molto solubili in acqua.

Diazinone. C₁₂H₂₁N₂O₃PS. (M_r 304,3). 1125900. [333-41-5].

p.e.: circa 306 °C.

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

Dibenzile. C₁₄H₁₄. (M_r 182,3). 1011200. [103-29-7]. 1,2-Difeniletano.

Polvere bianca cristallina, praticamente insolubile in acqua, solubilissima in diclorometano, molto solubile in acetone, solubile in alcool.

p.f.: da 50 °C a 53 °C.

Dibutilammina. $C_8H_{19}N$. (M_r 129,3). 1126000. [111-92-2]. *N*-Butil-1-butanammina.

Liquido incolore.

n_D^{20} : circa 1,417.

p.e.: circa 159 °C.

Dibutile ftalato. $C_{16}H_{22}O_4$. (M_r 278,3). 1026800. [84-74-2]. Dibutile benzen-1,2-dicarbossilato.

Liquido oleoso incolore o debolmente colorato, limpido, molto poco solubile in acqua, miscibile con acetone, con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : da 1,043 a 1,048.

n_D^{20} : da 1,490 a 1,495.

Dicarbossidina cloridrato. $C_{20}H_{26}Cl_2N_2O_6$. (M_r 461,3). 1026900. [56455-90-4]. Acido 4,4'-[(4,4'-diamminodifenil-3,3'-diil)diossi]dibutanoico dicloridrato

Dicicloesilammina. $C_{12}H_{23}N$. (M_r 181,3). 1027500. [101-83-7]. *N,N*-Dicicloesilammina.

Liquido incolore, moderatamente solubile in acqua, miscibile con i comuni solventi organici.

n_D^{20} : circa 1,484

p.e.: circa 256 °C.

Punto di solidificazione (2.2.18). Da 0 °C a 1 °C.

Dicicloesile. $C_{12}H_{22}$. (M_r 166,3). 1135300. [92-51-3]. Bicicloesile.

d_{20}^{20} : circa 0,864.

p.e.: circa 227 °C.

p.f.: circa 4 °C.

Dicicloesilurea. $C_{13}H_{24}N_2O$. (M_r 224,4). 1027600. [2387-23-7]. 1,3-Dicicloesilurea.

Polvere cristallina bianca.

p.f.: circa 232 °C

Diclofention. $C_{10}H_{13}Cl_2O_3PS$. (M_r 315,2). 1126100. [97-17-6].

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Diclorobenzene. $C_6H_4Cl_2$. (M_r 147,0). 1027100. [95-50-1]. 1,2-Diclorobenzene.

Liquido oleoso incolore, praticamente insolubile in acqua, solubile in etanolo e in etere.

d_{20}^{20} : circa 1,31.

p.e.: circa 180 °C.

Diclorochinonclorimide. $C_6H_2Cl_3NO$. (M_r 210,4). 1027400. [101-38-2]. 2,6-Dicloro-*N*-cloro-1,4-benzochinone monoimmina.

Polvere cristallina da giallo pallida a giallo-verdastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool e nelle soluzioni alcaline diluite.

p.f.: circa 66 °C.

(S)-3,5-Dicloro-2,6-diidrossi-*N*-[(1-etilpirrolidin-2-il)metil]benzammide bromidrato. $C_{14}H_{19}BrCl_2N_2O_3$. (M_r 414,1). 1142600. [113310-88-6].

Polvere bianca cristallina.

$[\alpha]_D^{22}$: +11,4 determinato su una soluzione 15,0 g/l in etanolo *R*.

p.f.: 212 °C circa.

Dicloroetano. $C_2H_4Cl_2$. (M_r 99,0). 1036000. [107-06-2]. 1,2-Dicloroetano. Etilene cloruro.

Liquido incolore, limpido, solubile in circa 120 parti di acqua e in 2 parti di alcool, miscibile con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,25.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 82 °C e 84 °C.

Diclorofenolindofenolo sale sodico.

$C_{12}H_6Cl_2NNaO_2 \cdot 2H_2O$. (M_r 326,1), 1027300. [620-45-1]. Sodio derivato del 2,6-dicloro-*N*-(4-idrossifenil)-1,4-benzochinone mo-noimmina diidrato.

Polvere verde scuro, molto solubile in acqua e in etanolo. La soluzione acquosa è blu scuro; per acidificazione diventa rosa.

Diclorofenoloindofenolo soluzione standard. 1027301.

Disciogliere 50,0 mg di *diclorofenoloindofenolo sale sodico R* in 100,0 ml di *acqua R* e filtrare.

Determinazione del titolo. Disciogliere 20,0 mg di *acido ascorbico R* in 10 ml di una soluzione (200 g/l) di *acido metafosforico R*, preparata di recente, e diluire a 250,0 ml con *acqua R*. Titolare rapidamente 5,0 ml con la *diclorofenoloindofenolo soluzione standard*, aggiunta da una microburetta graduata in 0,01 ml, finché la colorazione rosa persiste per 10 secondi; la titolazione non deve durare più di 2 min. Diluire la *diclorofenoloindofenolo soluzione* con *acqua R* in modo che 1 ml della soluzione equivalga a 0,1 mg di *acido ascorbico (C₆H₈O₆)*.

Usare entro tre giorni dalla preparazione. Standardizzare immediatamente prima dell'uso.

Diclorofluoresceina. $C_{20}H_{10}Cl_2O_5$. (M_r 401,2). 1027200. [76-54-0]. 2,7-Diclorofluoresceina. Acido 2-(2,7-dicloro-6-idrossi-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoico.

Polvere da marrone giallastra ad arancione-gialla, poco solubile in acqua, molto solubile in alcool e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini dando una soluzione che mostra una fluorescenza verde-giallastra; praticamente insolubile in etere.

Diclorometano. CH_2Cl_2 . (M_r 84,9). 1055900. [75-09-2]. Metilene cloruro.

Liquido incolore, moderatamente solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

p.e.: da 39 °C a 42 °C.

Il diclorometano utilizzato in fluorimetria soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Fluorescenza. Per irraggiamento a 365 nm, la fluorescenza (2.2.21) misurata a 460 nm in una cella da 1 cm non è più intensa di quella di una soluzione contenente 0,002 ppm di chinina R in acido solforico 0,5 M, misurata nelle stesse condizioni.

Diclorometano acidificato. 1055901.

A 100 ml di diclorometano R aggiungere 10 ml di acido cloridrico R, agitare, lasciare a riposo e separare i due strati. Usare lo strato inferiore.

Diclorvos. C₄H₇Cl₂O₄P. (M_r 221). 1101200. [62-73-7]. 2,2-Diclorovinil dimetil fosfato.

Liquido da incolore a giallo brunastro, solubile in acqua, miscibile con la maggior parte dei solventi organici.

n_D²⁵: circa 1,452.

Didocosaesaenione. C₄₇H₆₈O₅. (M_r 713,0). 1142700. [88315-12-2].

Digliceride dell'acido docosaesaenoico (C22:6). Glicerolo didocosaesaenoato. Acido (*tutto-Z*)-docosaesaenoico, diestere con propan-1,2,3-triolo.

Il reattivo della Nu-Chek Prep Inc. è risultato idoneo.

Didodecile 3,3'-tiodipropionato. C₃₀H₅₈O₄S. (M_r 514,8). 1027700. [123-28-4]. Dilauril-tio-dipropionato.

Polvere cristallina bianca, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in acetone e in etere di petrolio, poco solubile in alcool.

p.f.: circa 39 °C.

Dieldrin. C₁₂H₈Cl₆O. (M_r 380,9). 1126200. [60-57-1].

p.e.: circa 385 °C.

p.f.: circa 176 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Dietanolammina. C₄H₁₁NO₂. (M_r 105,1). 1027800. [111-42-2]. 2,2'-Imminobisetanolo.

Liquido viscoso, limpido, leggermente giallo, o cristalli deliquescenti che fondono a circa 28 °C, solubilissimi in acqua, in acetone e in metanolo.

d₂₀²⁰: circa 1,09.

pH (2.2.3): da 10,0 a 11,5, determinato su una soluzione 50 g/l.

La dietanolammina utilizzata nel saggio della fosfatasi alcalina soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Etanolammina. Non più dell'1,0 per cento. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), utilizzando 3-amminopropanolo R come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Disciogliere 1,00 g di 3-amminopropanolo R in acetone R e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione in esame (a). Disciogliere 5,00 g della sostanza in esame in acetone R e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione in esame (b). Disciogliere 5,00 g della sostanza in esame in acetone R, aggiungere 1,0 ml della soluzione dello standard interno e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzioni di riferimento. Disciogliere 0,50 g di etanolammina R in acetone R e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente. A 0,5 ml, 1,0 ml e 2,0 ml di questa soluzione, aggiungere 1,0 ml della soluzione dello standard interno e diluire a 10,0 ml con acetone R.

Il procedimento cromatografico può essere effettuato utilizzando:

- una colonna lunga 1 cm e con diametro interno di 4 mm, impaccata con *difenilfenilene ossido polimero R* (180-250 μm),
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 40 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 125 °C per 3 min e poi aumentarla fino a 300 °C ad una velocità di 12 °C per minuto. Mantenere la temperatura della camera di iniezione a 250 °C e quella del rivelatore a 280 °C. Iniettare 1,0 μl di ciascuna soluzione in esame e 1,0 μl di ciascuna soluzione di riferimento.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Dietilammina. C₄H₁₁N. (M_r 73,1). 1028000. [109-89-7].

Liquido infiammabile, incolore, limpido, fortemente alcalino, miscibile con acqua e con alcool.

d₂₀²⁰: circa 0,71.

p.e.: circa 55 °C.

Dietilamminoetildestrano. 1028200.

Resina a scambio anionico disponibile come cloridrato.

Polvere che forma un gel con acqua.

N,N-Dietilanilina. C₁₀H₁₅N. (M_r 149,2). 1028400. [91-66-7].

d₂₀²⁰: circa 0,938.

p.e.: circa 217 °C.

p.f.: circa -38 °C.

Dietilenglicole. C₄H₁₀O₃. (M_r 106,1). 1028300. [111-46-6]. 2,2'-Ossidietanolo.

Contiene non meno del 99,5 per cento m/m di C₄H₁₀O₃.

Liquido incolore, limpido, igroscopico, miscibile con acqua, con acetone e con alcool.

d_{20}^{20} : circa 1,118.

n_D^{20} : circa 1,447.

p.e.: da 244 °C a 246 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Di(2-etilesil)ftalato. $C_{24}H_{38}O_4$. (M_r 390,5). 1028100.

Di(2-etilesil)benzen-1,2-dicarbossilato.

Liquido oleoso, incolore, praticamente insolubile in acqua, solubile nei solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,98.

n_D^{20} : circa 1,486.

Viscosità (2.2.9). Circa 80 mPas.

***N,N*-Dietiletan-1,2-diammina.** 1028500. [100-36-7].

Vedere *N,N*-dietiletildiammina *R*.

***N,N*-Dietiletildiammina.** $C_6H_{16}N_2$. (M_r 116,2). 1028500. [100-36-7].

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_6H_{16}N_2$.

Liquido leggermente oleoso, incolore o leggermente giallo, con forte odore di ammoniaca, irritante per la pelle, gli occhi e le mucose.

d_{20}^{20} : circa 0,827.

p.e.: da 145 °C a 147 °C.

Acqua (2.5.12). Non più dell'1,0 per cento, determinata su 0,500 g.

Dietilfenildiammina solfato. $C_{10}H_{18}N_2O_4S$. (M_r 262,3). 1028600. [6283-63-2]. *N,N'*-Dietil-*p*-fenildiammina solfato. *N,N'*-Dietilbenzen-1,4-diammina solfato.

Polvere bianca o leggermente gialla, solubile in acqua. p.f.: circa 185 °C, con decomposizione.

Conservare al riparo dalla luce.

Dietilfenildiammina solfato soluzione. 1028601.

A 250 ml di *acqua R* aggiungere 2 ml di *acido solforico R* e 25 ml di *sodio edetato 0,02 M*. Disciogliere in questa soluzione 1,1 g di *dietilfenildiammina solfato R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Non usare se la soluzione non è incolore.

Conservare al riparo dalla luce e dal calore ed usare entro 1 mese.

Dietossitetraidrofurano. $C_8H_{16}O_3$. (M_r 160,2). 1027900. [3320-90-9]. 2,5-Dietossitetraidrofurano. Miscela di isomeri *cis* e *trans*.

Liquido infiammabile, limpido, incolore o leggermente giallastro, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool, in etere e nella maggior parte dei solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,98.

n_D^{20} : circa 1,418.

Difenilammina. $C_{12}H_{11}N$. (M_r 169,2). 1032100. [122-39-4].

Cristalli bianchi, poco solubili in acqua, solubili in alcool.

p.f.: circa 55 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Difenilammina soluzione. 1032101.

Soluzione 1 g/l in *acido solforico R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Difenilammina soluzione R1. 1032102.

Soluzione 10 g/l in *acido solforico R*. La soluzione è incolore.

Difenilammina soluzione R2. 1032103.

Disciogliere 1 g di *difenilammina R* in 100 ml di *acido acetico glaciale R* e aggiungere 2,75 ml di *acido solforico R*. Usare immediatamente.

Difenilantracene. $C_{26}H_{18}$. (M_r 330,4). 1032200. [1499-10-1]. 9,10-Difenilantracene.

Polvere cristallina, da giallastra a gialla, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in etere.

p.f.: circa 248 °C.

Difenilbenzidina. $C_{24}H_{20}N_2$. (M_r 336,4). 1032300. [531-91-9]. *N,N'*-Difenilbenzidina. *N,N'*-Difenilbifenil-4,4'-diammina.

Polvere cristallina, bianca o debolmente grigia, praticamente insolubile in acqua, poco solubile in acetone e in alcool.

p.f.: circa 248 °C.

Nitrati. Disciogliere 8 mg in una miscela raffreddata di 5 ml di *acqua R* e 45 ml di *acido solforico esente da azoto R*. La soluzione è incolore o blu molto chiaro.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento.

Conservare al riparo dalla luce.

Difenilcarbazide. $C_{13}H_{14}N_4O$. (M_r 242,3). 1032500. [140-22-7]. 1,5-Difenilcarbonidrazide.

Polvere cristallina, bianca che gradualmente diventa rosa per esposizione all'aria, molto poco solubile in acqua, solubile in acetone, in alcool e in acido acetico glaciale.

p.f.: circa 170 °C.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento.

Conservare al riparo dalla luce.

Difenilcarbazide soluzione. 1032501.

Disciogliere 0,2 g di *difenilcarbazide R* in 10 ml di *acido acetico glaciale R* e diluire a 100 ml con *etanolo R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Difenilcarbazono. $C_{13}H_{12}N_4O$. (M_r 240,3). 1032600. [538-62-5]. 1,5-Difenilcarbazono.

Polvere cristallina, gialla-arancione, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in alcool.

p.f.: circa 157 °C, con decomposizione.

Difenilcarbazono-mercurio(-ico) reattivo. 1032601.

Soluzione I. Disciogliere 0,1 g di *difenilcarbazono R* in *etanolo R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente.

Soluzione II. Disciogliere 1 g di *mercurio(-ico) cloruro R* in *etanolo R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente.

Mescolare volumi uguali delle due soluzioni.

Difenilcarbazono soluzione.

Disciogliere 1 g di *difenilcarbazono R* in 75 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Conservare al riparo dalla luce.

Difenilfenilene ossido polimero. 1032800. 2,6-Difenil-*p*-fenilene ossido polimero.

Granuli porosi, bianchi o quasi bianchi. La grandezza dei granuli è specificata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Difenilossazolo. $C_{15}H_{11}NO$. (M_r 221,3). 1032700. [92-71-7]. 2,5-Difenilossazolo.

Polvere bianca, praticamente insolubile in acqua, solubile in metanolo, moderatamente solubile in diossano e in acido acetico glaciale.

p.f.: circa 70 °C.

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$: circa 1260 determinata a 305 nm in *metanolo R*.
Il *difenilossazolo* utilizzato per la scintillazione liquida è di una qualità analitica adatta.

Difenil-4-olo. $C_{12}H_{10}O$. (M_r 170,2). 1011300. [90-43-7]. 4-Fenilfenolo.

Polvere cristallina bianca, praticamente insolubile in acqua.

p.f.: da 164 °C a 167 °C.

Difosforo pentossido. Vedere *anidride fosforica R*.

Digitonina. $C_{56}H_{92}O_{29}$. (M_r 1229). 1028700. [11024-24-1]. 3 β -[*O*- β -D-Glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galattopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*-[β -D-xilopiranosil-(1 \rightarrow 3)]-*O*- β -D-galattopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-galattopiranosilossi]-(25*R*)-5 α -spirostan-2 α ,15 β -diolo.

Cristalli, praticamente insolubili in acqua, moderatamente solubili in etanolo, poco solubili in alcool, praticamente insolubili in etere.

Digitossina. 1028800. [71-63-6]. Vedere la monografia *Digitossina* (0078).

10,11-Diidrocarbamazepina. $C_{15}H_{14}N_2O$. (M_r 238,3). 1028900. [3564-73-6]. 10,11-Diidro-5*H*-dibenz[*b,f*]azepina-5-carbossammide.

p.f.: da 205 °C a 210 °C.

5,7-Diidrossi-4-metilcumarina. $C_{10}H_8O_4$. (M_r 192,2). 1149400. [2107-76-8]. 5,7-Diidrossi-4-metil-2*H*-1-benzopirano-2-one.

Polvere gialla chiara, praticamente insolubile in acqua, moderatamente solubile in alcool.

p.f.: tra 295 °C e 303 °C.

Diidrossinaftalene. 1029000. [132-86-5]. Vedere *1,3-diidrossinaftalene R*.

1,3-Diidrossinaftalene. $C_{10}H_8O_2$. (M_r 160,2). 1029000. [132-86-5]. 1,3-Naftalendiolo.

Polvere cristallina, generalmente viola-brunastra, molto solubile in acqua e in alcool.

p.f.: circa 125 °C.

2,7-Diidrossinaftalene. $C_{10}H_8O_2$. (M_r 160,2). 1029100. [582-17-2]. 2,7-Naftalendiolo.

Aghi, solubili in acqua, in alcool e in etere.

p.f.: circa 190 °C.

2,7-Diidrossinaftalene soluzione. 1029101.

Disciogliere 10 mg di *2,7-diidrossinaftalene R* in 100 ml di *acido solforico R* e lasciare a riposo fino a decolorazione.

Usare entro 2 giorni.

Diisobutilchetone. $C_9H_{18}O$. (M_r 142,2). 1029200. [108-83-8].

Liquido incolore, limpido, poco solubile in acqua, miscibile con la maggior parte dei solventi organici.

n_D^{20} : circa 1,414.

p.e.: circa 168 °C.

Diluente per ialuronidasi. 1043300.

Mescolare 100 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 6,4 R* con 100 ml di *acqua R*. Disciogliere 0,140 g di *gelatina idrolizzata R* nella soluzione a 37 °C.

Usare la soluzione entro 2 h.

Dimeticone. 1105400. [9006-65-9]. Vedere la monografia *Dimeticone* (0138).

Dimetilacetammide. C_4H_9NO . (M_r 87,1). 1029700. [127-19-5]. *N,N*-Dimetilacetammide.

Contiene non meno del 99,5 per cento di C_4H_9NO .

Liquido incolore, miscibile con acqua e con molti solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,94.

n_D^{20} : circa 1,437.

p.e.: circa 165 °C.

Dimetilamminobenzaldeide. $C_9H_{11}NO$. (M_r 149,2). 1029800. [100-10-7]. 4-Dimetilamminobenzaldeide.

Cristalli bianchi o bianco-giallastri, solubile in alcool e negli acidi diluiti.

p.f.: circa 74 °C.

Dimetilamminobenzaldeide soluzione R1. 1029801.

Disciogliere 0,2 g di *dimetilamminobenzaldeide R* in 20 ml di *alcool R* e aggiungere 0,5 ml di *acido cloridrico R*. Agitare la soluzione con *carbone attivato R* e filtrare. La colorazione del reattivo è meno intensa di quella della *iodio soluzione R3*.

Preparare immediatamente prima dell'uso.

Dimetilamminobenzaldeide soluzione R2. 1029802.

Disciogliere 0,2 g di *dimetilamminobenzaldeide R*, senza riscaldare, in una miscela di 4,5 ml di *acqua R* e 5,5 ml di *acido cloridrico R*.

Preparare immediatamente prima dell'uso.

Dimetilamminobenzaldeide soluzione R6. 1029803.

Disciogliere 0,125 g di *dimetilamminobenzaldeide R* in una miscela raffreddata di 35 ml di *acqua R* e 65 ml di *acido solforico R*. Aggiungere 0,1 ml di una soluzione (50 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*. Prima dell'uso lasciare a riposo per 24 h, al riparo dalla luce.

Se conservata a temperatura ambiente deve essere utilizzata entro una settimana; se mantenuta in frigorifero, può essere conservata per diversi mesi.

Dimetilamminobenzaldeide soluzione R7. 1029804.

Disciogliere 1,0 g di *dimetilamminobenzaldeide R* in 50 ml di *acido cloridrico R* e aggiungere 50 ml di *alcool R*.

Conservare al riparo dalla luce e usare entro 4 settimane.

Dimetilamminobenzaldeide soluzione R8. 1029805.

Disciogliere 0,25 g di *dimetilamminobenzaldeide R* in una miscela di 5 g di *acido fosforico R*, 45 g di *acqua R* e 50 g di *acido acetico anidro R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

4-Dimetilamminocinnamalaldeide. $C_{11}H_{13}NO$. (M_r 175,2). 1029900. [6203-18-5]. 3-(4-Dimetilamminofenil) prop-2-enale.

Cristalli o polvere da arancione a bruno-arancione. Sensibile alla luce.

p.f.: circa 138 °C.

4-Dimetilamminocinnamalaldeide soluzione. 1029901.

Disciogliere 2 g di *4-dimetilamminocinnamalaldeide R* in una miscela di 100 ml di *acido cloridrico R1* e 100 ml di *etanolo R*. Conservare in un luogo fresco. Diluire la soluzione a quattro volte il suo volume con *etanolo R* immediatamente prima dell'uso.

Conservare in un luogo fresco.

Dimetilamminonaftalensolfonile cloruro. $C_{12}H_{12}ClNO_2S$. (M_r 269,8). 1030000. [605-65-2]. 5-Dimetilammino-1-naftalensolfonile cloruro.

Polvere cristallina, gialla, poco solubile in acqua, solubile in metanolo.

p.f.: circa 70 °C.

Conservare in un luogo fresco.

Dimetilaniлина. $C_8H_{11}N$. (M_r 121,2). 1030100. [121-69-7]. *N,N*-dimetilaniлина.

Liquido oleoso limpido, quasi incolore se distillato di recente, durante la conservazione si scurisce fino al rosso-brunastro, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in alcool e in etere.

n_D^{20} : circa 1,558.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 192 °C e 194 °C.

2,3-Dimetilanilina. $C_8H_{11}N$. (M_r 121,2). 1105300. [87-59-2]. 2,3-Xilidina.

Liquido giallastro, moderatamente solubile in acqua, solubile in alcool.

d_{20}^{20} : da 0,993 a 0,995.

n_D^{20} : circa 1,569.

p.e.: circa 224 °C.

2,6-Dimetilanilina. $C_8H_{11}N$. (M_r 121,2). 1030200. [87-62-7]. 2,6-Xilidina.

Liquido incolore, moderatamente solubile in acqua, solubile in alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,98.

N,N-Dimetilaniлина. 1030100. [121-69-7]. Vedere *dimetilaniлина R*.

Dimetilcarbonato. $C_3H_6O_3$. (M_r 90,1). 1119300. [616-38-6]. Acido carbonico dimetilestere.

Liquido, insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_4^{17} : circa 1,065.

n_D^{20} : circa 1,368.

p.e.: circa 90 °C.

Dimetildecilammina. $C_{12}H_{27}N$. (M_r 185,4). 1113500. [1120-24-7]. *N,N*-dimetildecilammina.

Contiene non meno del 98,0 per cento *m/m* di $C_{12}H_{27}N$. p.e.: circa 234 °C.

1,1-Dimetilettilammina. $C_4H_{11}N$. (M_r 73,1). 1100900. [75-64-9]. 2-Ammino-2-metilpropano. *tert*-Butilammina.

Liquido, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,694.

n_D^{20} : circa 1,378.

p.e.: circa 46 °C.

(1,1-Dimetiletil)metiletere. C₅H₁₂O. (*M_r* 88,1). 1013900. [1634-04-4]. *tert*-Butilmetiletere.

Liquido infiammabile, limpido, incolore.

n_D²⁰: circa 1,376.

Trasmittanza minima (2.2.25), determinata usando *acqua R* come bianco:

non inferiore al 50 per cento a 240 nm,

non inferiore all'80 per cento a 255 nm,

non inferiore al 98 per cento a 280 nm.

(1,1-Dimetiletil)metiletere R1. 1126400.

Contiene non meno del 99,5 per cento di C₅H₁₂O.

d₂₀²⁰: circa 0,741.

n_D²⁰: circa 1,369.

p.e.: circa 55 °C.

2,6-Dimetilfenolo. C₈H₁₀O. (*M_r* 122,2). 1030600. [576-26-1].

Aghi incolori, poco solubili in acqua, solubilissimi in alcool e in etere.

p.e.: circa 203 °C.

p.f.: da 46 °C a 48 °C.

3,4-Dimetilfenolo. C₈H₁₀O. (*M_r* 122,2). 1098100. [95-65-8].

Cristalli bianchi o quasi bianchi, poco solubili in acqua, molto solubili in alcool.

p.e.: circa 226 °C.

p.f.: da 25 °C a 27 °C.

Dimetilformammide. C₃H₇NO. (*M_r* 73,1). 1030300. [68-12-2].

Liquido neutro, incolore, limpido, miscibile con acqua e con alcool.

d₂₀²⁰: da 0,949 a 0,952.

p.e.: circa 153 °C.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,1 per cento.

Dimetilformammide dietilacetale. C₇H₁₇NO₂. (*M_r* 147,2). 1113600. [1188-33-6].

N,N-dimetilformammide dietilacetale.

n_D²⁰: circa 1,40.

p.e.: da 128 °C a 130 °C.

Dimetilgliossima. C₄H₈N₂O₂. (*M_r* 116,1). 1030400. [95-45-4]. 2,3-Butandione diossima.

Polvere cristallina, bianca o cristalli incolori, praticamente insolubili in acqua fredda, molto poco solubili in acqua bollente, solubile in alcool e in etere.

p.f.: circa 240 °C, con decomposizione.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,05 per cento.

1,3-Dimetil-2-imidazolidinone. C₅H₁₀N₂O. (*M_r* 114,2). 1135400. [80-73-9]. *N,N'*-Dimetiletilenurea.

n_D²⁰: circa 1,4720.

p.e.: circa 224 °C.

2,4-Dimetil-6-*tert*-butilfenolo. C₁₂H₁₈O. (*M_r* 178,3). 1126500. [1879-09-0].

***N,N*-Dimetilottilammina.** C₁₀H₂₃N. (*M_r* 157,3). 1030500. [7378-99-6]. Ottildimetilammina.

Liquido incolore.

d₂₀²⁰: circa 0,765.

n_D²⁰: circa 1,424.

p.e.: circa 195 °C.

Dimetilpiperazina. C₆H₁₄N₂. (*M_r* 114,2). 1030700. [106-58-1]. 1,4-Dimetilpiperazina.

Liquido incolore, miscibile con acqua e con alcool.

d₂₀²⁰: circa 0,85.

n_D²⁰: circa 1,446.

p.e.: circa 131 °C.

Dimetilsolfone. C₂H₆O₂S. (*M_r* 94,1). 1030900. [67-71-0].

Polvere cristallina, bianca, molto solubile in acqua, solubile in acetone e in alcool.

p.f.: da 108 °C a 110 °C.

Dimetilsolfossido. C₂H₆OS. (*M_r* 78,1). 1029500. [67-68-5].

Liquido oleoso, incolore, limpido, igroscopico, miscibile con acqua e con alcool.

d₂₀²⁰: circa 1,10.

p.e.: circa 189 °C.

Acqua (2.5.12). Non più di 10 g/l.

Il dimetilsolfossido utilizzato in spettrofotometria soddisfa ai requisiti prescritti per il dimetilsolfossido R con il contenuto di acqua modificato come riportato di seguito e all'ulteriore saggio seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25) determinata usando *acqua R* come bianco:

10 per cento a 262 nm,

35 per cento a 270 nm,

70 per cento a 290 nm,

98 per cento a 340 nm e a lunghezze d'onda più elevate.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,2 per cento *m/m*.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Dimetilsolfossido deuterato. C₂²H₆OS. (*M_r* 84,2). 1025100. [2206-27-1]. (²H₆)-Dimetilsolfossido. Dimetilsolfossido-*d*₆.

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,8 per cento.

Liquido molto igroscopico, praticamente incolore, viscoso, solubile in acqua, in acetone, in etanolo e in etere.

d₂₀²⁰: circa 1,18.

p.f.: circa 20 °C.

Acqua e deuterio ossido. Non più dello 0,1 per cento. Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Dimetilstearammide. $C_{20}H_{41}NO$. (M_r 311,6). 1030800. *N,N*-Dimetilstearammide.

Massa solida bianca o quasi bianca, solubile in molti solventi organici, compreso l'acetone.

p.f.: circa 51 °C.

Dimetilstearilammide. 1030800. Vedere *dimetistearamide R*.

Dimetiltetradecilammia. $C_{16}H_{35}N$. (M_r 241,5). 1031000. *N,N*-Dimetiltetradecilammia.

Contiene non meno del 98,0 per cento *m/m* e non più dell'equivalente del 101,0 per cento *m/m* di $C_{16}H_{35}N$. Liquido incolore o leggermente giallo, limpido o quasi limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con acetone, con alcool e con metanolo.

d_{20}^{20} : circa 0,80.

p.e.: circa 260 °C.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,3 per cento *m/m*.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 0,200 g in 10 ml di *alcool R*. Usando 0,1 ml di *rosso metile soluzione R* come indicatore, titolare con *acido cloridrico 0,1 M* fino ad ottenere una colorazione rossa.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 24,15 mg di $C_{16}H_{35}N$.

4,4'-Dimetossibenzofenone. $C_{15}H_{14}O_3$. (M_r 242,3). 1126300. [90-96-0]. Bis(4-metossifenil)metanone.

Polvere bianca, praticamente insolubile in acqua e leggermente solubile in alcool.

p.f.: circa 142 °C.

Dimetossipropano. $C_5H_{12}O_2$. (M_r 104,1). 1105200. [77-76-9]. 2,2-Dimetossipropano.

Liquido incolore, si decompone per esposizione all'aria umida o all'acqua.

d_{20}^{20} : circa 0,847.

n_D^{20} : circa 1,378.

p.e.: circa 83 °C.

Dimidio bromuro. $C_{20}H_{18}BrN_3$. (M_r 380,3). 1031100. [518-67-2]. 3,8-Diammino-5-metil-6-fenilfenantridinio bromuro.

Cristalli rosso scuri, poco solubili in acqua a 20 °C, moderatamente solubili in acqua a 60 °C e in alcool, praticamente insolubili in etere.

Dimidio bromuro-blu sulfan indicatore misto. Vedere *dimidio bromuro-blu di disulfina indicatore misto R*.

Dimidio bromuro-blu di disulfina indicatore misto. 1031101.

Disciogliere separatamente 0,5 g di *dimidio bromuro R* e 0,25 g di *blu sulfan R* in 30 ml di una miscela calda di 1

volume di *etanolo R* e 9 volumi di *acqua R*, agitare, mescolare le due soluzioni e diluire a 250 ml con la stessa miscela di solventi. Mescolare 20 ml di questa soluzione con 20 ml di una soluzione al 14,0 per cento *V/V* di *acido solforico R*, precedentemente diluita con circa 250 ml di *acqua R* e diluire a 500 ml con *acqua R*. Conservare al riparo dalla luce.

Dinitrobenzene. $C_6H_4N_2O_4$. (M_r 168,1). 1031200. [528-29-0]. 1,3-Dinitrobenzene.

Polvere cristallina o cristalli giallastri, praticamente insolubili in acqua, poco solubili in alcool.

p.f.: circa 90 °C.

Dinitrobenzene soluzione. 1031201.

Soluzione 10 g/l in *alcool R*.

Dinitrobenzoile cloruro. $C_7H_3ClN_2O_5$. (M_r 230,6). 1031400. [99-33-2]. 3,5-Dinitrobenzoile cloruro.

Polvere cristallina giallo pallido o cristalli incolori.

p.f.: circa 68 °C.

Dinitrofenilidrazina. $C_6H_6N_4O_4$. (M_r 198,1). 1031500. [119-26-6]. 2,4-Dinitrofenilidrazina.

Cristalli arancione-rossastri, molto poco solubili in acqua, poco solubili in alcool.

p.f.: circa 203 °C (metodo istantaneo).

Dinitrofenilidrazina soluzione aceto-cloridrica. 1031501.

Disciogliere 0,2 g di *dinitrofenilidrazina R* in 20 ml di *metanolo R* e aggiungere 80 ml di una miscela di uguali volumi di *acido acetico R* e *acido cloridrico R1*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Dinitrofenilidrazina soluzione alcoolica.

A 0,5 g di *dinitrofenilidrazina R* aggiungere 5 ml di *acido cloridrico R*, agitare bene e aggiungere 100 ml di *alcool R*, scaldando a b.m. fino a dissoluzione completa. Aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R*, mescolare e lasciare a riposo al buio per circa 12 h. Filtrare.

Dinitrofenilidrazina soluzione solforica 1029901.

Disciogliere 1,5 g di *dinitrofenilidrazina R* in 50 ml di una soluzione al 20 per cento *V/V* di *acido solforico R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Dinonile ftalato. $C_{26}H_{42}O_4$. (M_r 418,6). 1031600. [28553-12-0].

Liquido viscoso da incolore a giallo pallido.

d_{20}^{20} : da 0,97 a 0,98.

n_D^{20} : da 1,482 a 1,489.

Acidità. Agitare 5,0 g con 25 ml di *acqua R* per 1 min. Lasciare a riposo, filtrare lo strato acquoso dopo averlo separato e aggiungere 0,1 ml di *fenolfaleina soluzione R*.

Non sono necessari più di 0,3 ml di *sodio idrossido 0,1 M* per far virare la colorazione della soluzione (0,05 per cento, calcolato come acido ftalico).

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,1 per cento.

Dioossano. $C_4H_8O_2$. (M_r 88,1). 1032000. [123-91-1]. 1,4-Dioossano.

Liquido incolore, limpido, miscibile con acqua e con la maggior parte dei solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 1,03.

Punto di solidificazione (2.2.18). Da 9 °C a 11 °C.

Acqua (2.5.12). Non superiore allo 0,5 per cento.

Non distillare se il dioossano non soddisfa al saggio dei perossidi.

Perossidi. Porre 8 ml di *potassio ioduro e amido soluzione R* in un cilindro con tappo a smeriglio da 12 ml con diametro di circa 1,5 cm. Riempire completamente con la sostanza in esame, agitare energicamente e lasciare a riposo al buio per 30 min. Non si sviluppa alcuna colorazione.

Il dioossano utilizzato per la scintillazione liquida è di qualità analitica idonea.

Dioossano soluzione madre. 1032001.

Disciogliere 1,00 g di *dioossano R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 50,0 ml con *acqua R* (1,0 mg/ml).

Dioossano soluzione. 1032002.

Diluire 50,0 ml di *dioossano soluzione madre R* a 100,0 ml con *acqua R* (0,5 mg/ml di dioossano).

Dioossano soluzione R1. 1032003.

Diluire 10,0 ml di *dioossano soluzione R* a 50,0 ml con *acqua R* (0,1 mg/ml di dioossano).

Diottadecile disolfuro. $C_{36}H_{74}S_2$. (M_r 571,1). 1031700. [1844-09-3].

Polvere bianca, praticamente insolubile in acqua.

p.f.: da 53 °C a 58 °C.

Diottadecile 3,3'-tiodipropionato. $C_{42}H_{82}O_4S$. (M_r 683). 1031900. [693-36-7]. Disteariltio-dipropionato.

Polvere cristallina, bianca, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in diclorometano, moderatamente solubile in acetone, in alcool e in etere di petrolio.

p.f.: da 58 °C a 67 °C.

2,2'-Di(ottadecilossi)-5,5'-spirobi(1,3,2-diossafosforinano). $C_{41}H_{82}O_6P_2$. (M_r 733). 1031800.

Solido ceroso, bianco, praticamente insolubile in acqua, solubile in idrocarburi.

p.f.: da 40 °C a 70 °C.

2,2'-Dipiridilammina. $C_{10}H_9O_3$. (M_r 171,2). 1157700. [1202-34-2]. *N*-(Piridin-2-il)-piridin-2-ammina.

p.f.: circa 95 °C.

Disodio arseniato. $Na_2HA_5O_4 \cdot 7H_2O$. (M_r 312,0). 1102500. [10048-95-0]. Disodio idrogeno arseniato eptaidrato. Sodio arseniato dibasico.

Cristalli, efflorescenti in aria calda, molto solubili in acqua, solubili in glicerolo, poco solubili in alcool. La soluzione acquosa è alcalina al tornasole.

d_{20}^{20} : circa 1,87

p.f.: circa 57 °C, se scaldato rapidamente.

Disodio tetraborato. 1033600. [1303-96-4]. Vedere *sodio tetraborato R*.

Ditalimfos. $C_{12}H_{14}NO_4PS$. (M_r 299,3). 1126700. [5131-24-8]. *O,O*-Dietyl(1,3-diidro-1,3-diosso-2*H*-isoindol-2-il)fosfonotioato.

Molto poco solubile in acqua, in etile acetato e in etanolo.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento.

Ditiolo. $C_7H_8S_2$. (M_r 156,3). 1033800. [496-74-2]. 3,4-Toluenditiolo. 4-Metilbenzen-1,2-ditiolo.

Cristalli bianchi, igroscopici, solubili in metanolo e nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

p.f.: circa 30 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ditiolo reattivo. 1033801.

A 1 g di *ditiolo R* aggiungere 2 ml di *acido tioglicolico R* e diluire a 250 ml con una soluzione (20 g/l) di *sodio idrossido R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ditiotreitolo. $C_4H_{10}O_2S_2$. (M_r 154,2). 1098200. [27565-41-9]. *treo*-1,4-Dimercapto-2,3-butandiolo.

Aghi leggermente igroscopici, molto solubili in acqua, in acetone e in etanolo.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ditizone. $C_{13}H_{12}N_4S$. (M_r 256,3). 1033900. [60-10-6]. 1,5-Difeniltiocarbazone.

Polvere nero bluastra, nero brunastra o nera, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

Conservare al riparo dalla luce.

Ditizone soluzione. 1033901.

Soluzione 0,5 g/l in *cloroformio R*.

Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ditizone soluzione R2. 1033903.

Disciogliere 40,0 mg di *ditizone R* in *cloroformio R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 30,0 ml della soluzione a 100,0 ml con *cloroformio R*.

Determinazione del titolo. Disciogliere una quantità di mercurio(-ico) cloruro R equivalente a 0,1354 g di HgCl₂ in una miscela di uguali volumi di acido solforico diluito R e acqua R e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi. Diluire 2,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con una miscela di uguali volumi di acido solforico diluito R e acqua R. (Questa soluzione contiene 20 ppm di Hg). Trasferire 1,0 ml della soluzione in un imbuto separatore e aggiungere 50 ml di acido solforico diluito R, 140 ml di acqua R e 10 ml di una soluzione (200 g/l) di idrossilammina cloridrato R. Titolare con ditizione soluzione; dopo ogni aggiunta, agitare la miscela venti volte e verso la fine della titolazione lasciar separare ed eliminare lo strato di cloroformio. Titolare fino ad ottenere una colorazione verde-bluastro. Calcolare l'equivalente in milligrammi di mercurio per millilitro di ditizione soluzione dall'espressione $20/V$, dove V è il volume in millilitri di ditizione soluzione usato nella titolazione.

Ditizone RI. C₁₃H₁₂N₄S. (M_r 256,3). 1105500. [60-10-6]. 1,5-Difeniltiocarbazone.

Contiene non meno del 98,0 per cento di C₁₃H₁₂N₄S. Polvere nera-bluastro, nera-brunastro o nera, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

Conservare al riparo dalla luce.

Divanadio pentossido. V₂O₅. (M_r 181,9). 1034000. [1314-62-1]. Anidride vanadica.

Contiene non meno del 98,5 per cento di V₂O₅.

Polvere da bruno-giallastra a bruno-ruggine, poco solubile in acqua, solubile negli acidi minerali forti e nelle soluzioni di idrossidi alcalini con formazione di sali.

Aspetto della soluzione. Scaldare 1 g con 10 ml di acido solforico R per 30 min. Lasciar raffreddare e diluire a 10 ml con lo stesso acido. La soluzione è limpida (2.2.I).

Sensibilità all'idrogeno perossido. Diluire cautamente 1,0 ml della soluzione preparata per il saggio dell'aspetto della soluzione a 50,0 ml con acqua R. A 0,5 ml della soluzione aggiungere 0,1 ml di una soluzione di idrogeno perossido (H₂O₂ 0,1 g/l). La soluzione ha una netta colorazione arancione in confronto ad un bianco preparato da 0,5 ml della soluzione in esame e 0,1 ml di acqua R. Dopo l'aggiunta di 0,4 ml di una soluzione di idrogeno perossido (H₂O₂ 0,1 g/l), la soluzione arancione diventa giallo-arancione.

Perdita alla calcinazione. Non superiore all'1,0 per cento, determinata su 1,00 g a 700 °C.

Determinazione quantitativa. Disciogliere, scaldando, 0,200 g in 20 ml di una soluzione al 70 per cento *m/m* di acido solforico R. Aggiungere 100 ml di acqua R e potassio permanganato 0,02 M fino ad ottenere una

colorazione rossastra. Decolorare l'eccesso di potassio permanganato per aggiunta di una soluzione (30 g/l) di sodio nitrito R. Aggiungere 5 g di urea R e 80 ml di una soluzione al 70 per cento *m/m* di acido solforico R. Raffreddare. Titolare immediatamente la soluzione con ferro(-oso) solfato 0,1 M usando 0,1 ml di ferroina R come indicatore, fino ad ottenere una colorazione rosso-verdastra.

1 ml di ferro(-oso) solfato 0,1 M equivale a 9,095 mg di V₂O₅.

Divanadio pentossido soluzione solforica. 1034001.

Disciogliere 0,2 g di divanadio pentossido R in 4 ml di acido solforico R e diluire a 100 ml con acqua R.

Docusato sodico. 1034100. [577-11-7]. Vedere la monografia *Docusato sodico* (1418).

Dodeciltrimetilammonio bromuro. C₁₅H₃₄BrN. (M_r 308,4). 1135500. [1119-94-4]. *N,N,N*-Trimetildodecan-1-ammino bromuro.

Cristalli bianchi.

p.f.: circa 246 °C.

Dotriacontano. C₃₂H₆₆. (M_r 450,9). 1034200. [544-85-4]. *n*-Dotriacontano.

Lastre bianche, praticamente insolubili in acqua, moderatamente solubili in esano, poco solubili in etere.

p.f.: circa 69 °C.

Impurezze. Non più dello 0,1 per cento di impurezze con lo stesso valore di t_R dell' α -tocoferolo acetato, determinato mediante il metodo gas cromatografico prescritto nella monografia *α -Tocoferolo acetato* (0439).

Doxiciclina. 1145800.

Vedere la monografia *Doxiciclina monidrato* (0820).

Ederacoside C. C₅₉H₉₆O₂₆. (M_r 1221). 1158100. [27013-76-9]. *O*-6-Deossi- α -L-mannopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosil-(4*R*)-3 β -[[2-*O*(6-deossi- α -L-mannopiranosil)- α -L-arabino-piranosil]ossi]-23-idrossiolean-12-en-28-oato.

Cristalli incolori o polvere bianca o quasi bianca.

p.f.: circa 220 °C.

L'ederacoside C utilizzato in cromatografia liquida soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Edera foglia* (2148).

Soluzione in esame. Disciogliere 5,0 mg di ederacoside C in 5,0 ml di metanolo R.

Contenuto: non inferiore al 95 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

α - Ederina. C₄₁H₆₆O₁₂. (M_r 751,0). 1158200. [27013-91-8]. Acido (↓)-(4*R*)-3 β -[[2-*O*(6-Deossi- α -L-mannopiranosil)- α -L-arabino-piranosil]ossi]-23-idrossiolean-12-en-28-oico.

Polvere bianca o quasi bianca.

p.f.: circa 256 °C.

Elettrolita reattivo per la determinazione semimicro dell'acqua. 1113700.

Reattivo anidro o una combinazione di reattivi anidri disponibili in commercio per la titolazione coulombometrica dell'acqua, contenente basi organiche idonee, diossido di zolfo e iodio disciolti in un solvente adatto.

Elio per cromatografia. He. (A_r 4,003). 1041800. [7440-59-7].

Contiene non meno del 99,995 per cento *V/V* di He.

Emetina dicloridrato. 1034300. [316-42-7]. Vedere la monografia *Emetina cloridrato pentaidrato* (0081).

Emodina. $C_{15}H_{10}O_5$. (M_r 270,2). 1034400. [518-82-1]. 1,3,8-Triidrossi-6-metilanttrachinone.

Aghi rosso-arancione, praticamente insolubili in acqua, poco solubili in etere, solubili in alcool e nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Rabarbaro* (0291); il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Emoglobina. 1041700. [9008-02-0].

Azoto. Dal 15 per cento al 16 per cento.

Ferro. Dallo 0,2 per cento allo 0,3 per cento.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 2 per cento.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,5 per cento.

Emoglobina soluzione. 1041701.

Trasferire 2 g di *emoglobina R* in un recipiente da 250 ml e aggiungere 75 ml di *acido cloridrico diluito R2*. Agitare fino a dissoluzione completa. Portare il pH a $1,6 \pm 0,1$ (2.2.3) usando *acido cloridrico 1 M*. Trasferire in un recipiente da 100 ml con l'ausilio di *acido cloridrico R2*. Aggiungere 25 mg di *tiomersale R*. Preparare giornalmente, conservare ad una temperatura di 5 ± 3 °C e riportare il pH a 1,6 prima dell'uso.

Conservare a 2-8 °C.

α -Endosulfan. $C_9H_6Cl_6O_3S$. (M_r 406,9). 1126800. [959-98-8].

p.e.: circa 200 °C.

p.f.: circa 108 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in cicloesano).

β -Endosulfan. $C_9H_6Cl_6O_3S$. (M_r 406,9). 1126900. [33213-65-9].

p.e.: circa 390 °C.

p.f.: circa 207 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in cicloesano).

Endrin. $C_{12}H_8Cl_6O$. (M_r 380,9). 1127000. [72-20-8].

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in cicloesano).

Eparina. 1041900. [9041-08-1]. Vedere la monografia *Eparina sodica* (0333).

Eptacloro. $C_{10}H_5Cl_7$. (M_r 373,3). 1128000. [76-44-8].

p.e.: circa 135 °C.

p.f.: circa 95 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in cicloesano).

Eptacloro epossido. $C_{10}H_5Cl_7O$. (M_r 389,3). 1128100. [1024-57-3].

p.e.: circa 200 °C.

p.f.: circa 160 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in cicloesano).

Eptafluoro-*N*-metil-*N*-(trimetilsilil)butanammide.

$C_8H_{12}F_7NOSi$. (M_r 299,3). 1139500. [53296-64-3]. 2,2,3,3,4,4,4-Eptafluoro-*N*-metil-*N*-(trimetilsilil)butiramamide.

Liquido chiaro, incolore, infiammabile.

n_D^{20} : circa 1,351.

p.e.: circa 148 °C.

Eptano. C_7H_{16} . (M_r 100,2). 1042000. [142-82-5].

Liquido infiammabile, incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con etanolo e con etere.

d_{20}^{20} : da 0,683 a 0,686.

n_D^{20} : da 1,387 a 1,388.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 97 °C e 98 °C.

Eritritolo. $C_4H_{10}O_4$. (M_r 122,1). 1113800. [149-32-6]. (*R**,*S**)-Butan-1,2,3,4-tetrololo. *meso*-Eritritolo.

Prismi tetragonali, solubilissimi in acqua, solubili in piridina, poco solubili in alcool.

p.f.: circa 121,5 °C.

Eritrociti di coniglio sospensione. 1074500.

Preparare una sospensione all'1,6 per cento *V/V* di eritrociti di coniglio come segue: defibrinare 15 ml di sangue di coniglio prelevato di recente agitando con palline di vetro, centrifugare a 2000 g per 10 min e lavare gli eritrociti con tre porzioni, da 30 ml ciascuna, di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*. Diluire 1,6 ml della sospensione di eritrociti a 100 ml con una miscela di 1 volume di *tampone fosfato soluzione a pH 7,2 R* e 9 volumi di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*.

Erucammide. $C_{22}H_{43}NO$. (M_r 337,6). 1034500. [112-84-5]. (*Z*)-Docos-13-enammide.

Polvere bianca o giallastra o granuli, praticamente insolubili in acqua, solubilissimi in diclorometano, solubili in etanolo.

p.f.: circa 70 °C.

Esaclorobenzene. C₆Cl₆. (M_r 284,8). 1128200. [118-74-1].

p.e.: circa 332 °C.

p.f.: circa 230 °C.

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

α-Esaclorocicloesano. C₆H₆Cl₆. (M_r 290,8). 1128300. [319-84-6].

p.e.: circa 288 °C.

p.f.: circa 158 °C.

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

β-Esaclorocicloesano. C₆H₆Cl₆. (M_r 290,8). 1128400. [319-85-7].

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

δ-Esaclorocicloesano. C₆H₆Cl₆. (M_r 290,8). 1128500. [319-86-8].

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Esacosano. C₂₆H₅₄. (M_r 366,7). 1042200. [630-01-3].

Fiocchi bianchi o incolori.

p.f.: circa 57 °C.

2,2',2'',6,6',6''-Esa(1,1-dimetiletil)-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benzotriil)trismetilen]trifenolo. C₅₄H₇₈O₃. (M_r 775). 1042100. 2,2',2'',6,6',6''-Esa-*tert*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benzotriil)trismetilen]trifenolo.

Polvere cristallina, praticamente insolubile in acqua, solubile in acetone, poco solubile in alcool.

p.f.: circa 244 °C.

Esadimetrina bromuro. (C₁₃H₃₀Br₂N₂)_n. 1042300. [28728-55-4]. 1,5-Dimetil-1,5-diazaundecametilene polimetobromuro. Poli(1,1,5,5-tetrametil-1,5-azonia-undecametilene dibromuro).

Polvere amorfa, bianca, igroscopica, solubile in acqua.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

1,1,1,3,3,3-Esafluoropropan-2-olo. C₃H₂F₆O. (M_r 168,0). 1136000. [920-66-1].

Contiene non meno del 99,0 per cento di C₃H₂F₆O, determinato mediante gas cromatografia.

Liquido limpido, inodore, miscibile con acqua e con etanolo.

d_{20}^{20} : circa 1,596.

p.e.: circa 59 °C.

Esametildisilazano. C₆H₁₉NSi₂. (M_r 161,4). 1042400. [999-97-3].

Liquido inodore, limpido.

d_{20}^{20} : circa 0,78.

n_D^{20} : circa 1,408.

p.e.: circa 125 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Esametilentetrammina. C₆H₁₂N₄. (M_r 140,2). 1042500. [100-97-0]. Esammina. 1,3,5,7-Tetra-azatriciclo [3.3.1.1^{3,7}]decano.

Polvere cristallina, inodore, solubilissima in acqua.

Esano. C₆H₁₄. (M_r 86,2). 1042600. [110-54-3].

Liquido inodore, infiammabile, praticamente insolubile in acqua, miscibile con etanolo e con etere.

d_{20}^{20} : da 0,659 a 0,663.

n_D^{20} : da 1,375 a 1,376.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 67 °C e 69 °C.

L'esano utilizzato in spettrofotometria soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25) determinata usando acqua R come bianco: 97 per cento da 260 nm a 420 nm.

Escina. 1001700. [11072-93-8].

Miscela di saponine correlate ottenute dai semi di *Aesculus hippocastanum* L.

Polvere amorfa, quasi bianca o leggermente rossastra o giallastra, fine.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Poligala radice (0202)*, con l'eccezione di deporre 20 l della soluzione. Dopo aver spruzzato con *aldeide anisica soluzione R* e scaldato, il cromatogramma presenta una macchia principale con R_f di circa 0,4.

Esculina. C₁₅H₁₆O₉.1½H₂O. (M_r 367,3). 1119400. [531-75-9]. 6-(β-D-Glucopiranosilossi)-7-idrossi-2H-cromen-2-one.

Polvere da bianca a quasi bianca o cristalli incolori, moderatamente solubile in acqua e in alcool, molto solubile in acqua calda e in alcool caldo.

Cromatografia (2.2.27). Esaminare come prescritto nella monografia *Eleuterococco (1419)*. Il cromatogramma mostra solo una macchia principale.

Esilammina. C₆H₁₅N. (M_r 101,2). 1042700. [111-26-2]. Esanammina.

Liquido inodore, poco solubile in acqua, solubile in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,766.

n_D^{20} : circa 1,418.

p.e.: da 127 °C a 131 °C.

Esperidina. $C_{28}H_{34}O_{15}$. (M_r 611). 1139000. [520-26-3]. (S)-7-[[6-O-(6-Desossi- α -L-mannopiranosil)- β -D-glucopiranosil]ossi]-5-idrossi-2-(3-idrossi-4-metossifenil)-2,3-diidro-4H-1-benzopiran-4-one.

Polvere igroscopica, poco solubile in acqua e in metanolo.

p.f.: da 258 °C a 262 °C.

Estradiolo. $C_{18}H_{24}O_2$. (M_r 272,4). 1135600. [50-28-2]. Estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diolo. β -estradiolo.

Prismi stabili all'aria, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in alcool, solubili in acetone e in diossano, moderatamente solubili negli oli vegetali.

p.f.: da 173 °C a 179 °C.

17 α -Estradiolo. $C_{18}H_{24}O_2$. (M_r 272,4). 1034600. [57-91-0].

Polvere cristallina, bianca o quasi bianca, o cristalli incolori.

p.f.: da 220 °C a 223 °C.

Estragolo. $C_{10}H_{12}O$. (M_r 148,2). 1034700. [140-67-0]. 1-Metossi-4-(2-propenil)benzene.

Liquido, miscibile con alcool.

n_D^{20} : circa 1,52.

p.e.: circa 216 °C.

L'estragolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Anice essenza (0804)* utilizzando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Etanolamina. C_2H_7NO . (M_r 61,1). 1034900. [141-43-5]. 2-Amminoetanolo.

Liquido limpido, incolore, viscoso, igroscopico, miscibile con acqua e con metanolo, moderatamente solubile in etere.

d_{20}^{20} : circa 1,04.

n_D^{20} : circa 1,454.

p.f.: circa 11 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Etanolo. 1034800. [64-17-5].

Vedere *Etanolo anidro R*.

Etanolo R1. 1034801.

Soddisfa ai requisiti prescritti nella monografia *Etanolo anidro (1318)* e agli ulteriori requisiti seguenti:

Metanolo. Non più dello 0,005 per cento V/V , determinato mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. Usare la sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Diluire 0,50 ml di *metanolo anidro R* a 100,0 ml con la sostanza in esame. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con la sostanza in esame.

Il procedimento cromatografico può essere effettuato utilizzando:

- una colonna di vetro lunga 2 m e con diametro interno di 2 mm, impaccata con *etilvinilbenzene-divinilbenzene copolimero R* (75-100 μ m),
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 30 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 130 °C, quella della camera di iniezione a 150 °C e quella del rivelatore a 200 °C. Iniettare tre volte, alternativamente 1 μ l della soluzione in esame e della soluzione di riferimento. Dopo ciascuna cromatografia, scaldare la colonna a 230 °C per 8 min. Integrare il picco del metanolo. Calcolare il contenuto percentuale di metanolo dall'espressione:

$$\frac{a \times b}{c - b}$$

a = percentuale V/V di metanolo contenuta nella soluzione di riferimento,

b = area del picco del metanolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame,

c = area del picco del metanolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Etanolo al 96 per cento. 1002500. [64-17-5].

Vedere *Etanolo (x per cento V/V)*. 1002502.

Etanolo (x per cento V/V). 1002502.

Mescolare volumi appropriati di *acqua R* e di *alcool R*, tenendo conto degli effetti del riscaldamento e di contrazione di volume inerenti alla preparazione di una tale miscela, per ottenere una soluzione il cui contenuto finale di etanolo corrisponda al valore di x .

Etanolo anidro. 1034800. [64-17-5].

Vedere la monografia *Etanolo anidro (1318)*.

Etere. $C_4H_{10}O$. (M_r 74,1). 1035000. [60-29-7]. Dietiletere.

Liquido volatile e molto mobile, incolore, limpido, molto infiammabile, igroscopico, solubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : da 0,713 a 0,715.

p.e.: da 34 °C a 35 °C.

Non distillare se l'etere non soddisfa al saggio dei perossidi.

Perossidi. Porre 8 ml di *potassio ioduro e amido soluzione R* in un cilindro con tappo a smeriglio da 12 ml e con diametro di circa 1,5 cm. Riempire completamente con la sostanza in esame, agitare vigorosamente e lasciare a riposo al buio per 30 min. Non si sviluppa alcuna colorazione.

Il nome e la concentrazione degli eventuali stabilizzanti aggiunti sono indicati in etichetta.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce, ad una temperatura non superiore a 15 °C.

Etere benzilico. C₁₄H₁₄O. (*M_r* 198,3). 1140900. [103-50-4]. Etere dibenzilico.

Liquido limpido e incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con acetone e etanolo.

d_{20}^{20} : circa 1,043.

n_D^{20} : circa 1,562.

p.e.: circa 296 °C, con decomposizione.

Etere dibutilico. C₈H₁₈O. (*M_r* 130,2). 1026700. [142-96-1]. Dibutiletere.

Liquido infiammabile, incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con etanolo e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,77.

n_D^{20} : circa 1,399.

Non distillare se l'etere dibutilico non soddisfa al saggio dei perossidi.

Perossidi. Porre 8 ml di *potassio ioduro e amido soluzione R* in un cilindro con tappo a smeriglio di 12 ml con diametro di circa 1,5 cm. Riempire completamente con la sostanza in esame, agitare vigorosamente e lasciare a riposo al riparo dalla luce per 30 min. Non si sviluppa alcuna colorazione.

Il nome e la concentrazione degli eventuali stabilizzanti aggiunti sono indicati in etichetta.

Etere diisopropilico. Vedere *etere isopropilico R*.

Etere di petrolio. 1063100. [8032-32-4]. Petroleina.

Liquido infiammabile, non fluorescente, incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : da 0,661 a 0,664.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Da 50 °C a 70 °C.

Etere di petrolio R1. 1063101.

Soddisfa ai requisiti prescritti per *etere di petrolio R*, con le modifiche seguenti:

d_{20}^{20} : da 0,630 a 0,656.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Da 40 °C a 60 °C.

Non si intorbidisce a 0 °C.

Etere di petrolio R2. 1063102.

Soddisfa ai requisiti prescritti per *etere di petrolio R*, con le modifiche seguenti:

d_{20}^{20} : da 0,620 a 0,630.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Da 30 °C a 40 °C.

Non si intorbidisce a 0 °C.

Etere di petrolio R3. 1063103.

Soddisfa ai requisiti prescritti per *etere di petrolio R*, con le modifiche seguenti:

d_{20}^{20} : da 0,659 a 0,671.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Da 40 °C a 80 °C.

Etere esente da perossidi. 1035100. Vedere la monografia *Etere per anestesia (0367)*.

Etere isopropilico. C₆H₁₄O. (*M_r* 102,2). 1029300. [108-20-3].

Liquido incolore, limpido, molto poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : da 0,723 a 0,728.

p.e.: da 67 °C a 69 °C.

Non distillare se l'etere isopropilico non soddisfa al saggio dei perossidi.

Perossidi. Porre 8 ml di *potassio ioduro e amido soluzione R* in un cilindro con tappo a smeriglio da 12 ml con diametro di circa 1,5 cm. Riempire completamente con la sostanza in esame, agitare vigorosamente e lasciare a riposo al riparo dalla luce per 30 min. Non si sviluppa alcuna colorazione.

Il nome e la concentrazione degli eventuali stabilizzanti aggiunti sono indicati in etichetta.

Conservare al riparo dalla luce.

4-[(Etilammino)metil]piridina. C₈H₁₂N₂. (*M_r* 136,2). 1101300. [33403-97-3].

Liquido giallo pallido.

d_{20}^{20} : circa 0,98.

n_D^{20} : circa 1,516.

p.e.: circa 98 °C.

Etilbenzene. C₈H₁₀. (*M_r* 106,2). 1035800. [100-41-4].

Contiene non meno del 99,5 per cento *m/m* di C₈H₁₀, determinato mediante gas cromatografia.

Liquido incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, solubile in acetone e in alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,87.

n_D^{20} : circa 1,496.

p.e.: circa 135 °C.

Etile acetato. C₄H₈O₂. (*M_r* 88,1). 1035300. [141-78-6].

Etere acetico.

Liquido incolore, limpido, solubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : da 0,901 a 0,904.

p.e.: da 76 °C a 78 °C.

Etile acetato trattato. 1035301.

Disperdere 200 g di *acido solfamminico R* in *etile acetato R* e portare a 1000 ml con lo stesso solvente. Porre sotto agitazione per tre giorni la sospensione ottenuta e filtrare attraverso la carta da filtro.

La soluzione deve essere usata entro un mese dalla sua preparazione.

Etile acrilato. $C_5H_8O_2$. (M_r 100,1). 1035400. [140-88-5].

Etile 2-propenoato.

Liquido incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,924.

n_D^{20} : circa 1,406.

p.e.: circa 99 °C.

p.f.: circa -71 °C.

Etile benzoato. $C_9H_{10}O_2$. (M_r 150,2). 1135700. [93-89-0].

Liquido limpido, incolore, rifrangente, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere di petrolio.

d_4^{25} : circa 1,050.

n_D^{20} : circa 1,506.

p.e.: da 211 °C a 213 °C.

Etile 5-bromovalerato. $C_7H_{13}BrO_2$. (M_r 209,1). 1142900. [14660-52-7]. Etile 5-bromopentanoato.

Liquido chiaro, incolore.

d_{20}^{20} : circa 1,321.

p.e.: da 104 °C a 109 °C.

Etile cianoacetato. $C_5H_7NO_2$. (M_r 113,1). 1035500. [105-56-6].

Liquido da incolore a giallo pallido, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

p.e.: da 205 °C a 209 °C, con decomposizione.

Etile formiato. $C_3H_6O_2$. (M_r 74,1). 1035600. [109-94-4]. Etile metanoato.

Liquido infiammabile, incolore, limpido, molto solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,919.

n_D^{20} : circa 1,36.

p.e.: circa 54 °C.

Etile paraidrossibenzoato. 1035700. [120-47-8]. Vedere la monografia *Etile paraidrossibenzoato (0900)*.

Etile ioduro. Vedere *iodoetano R*.

Etilendiammina. $C_2H_8N_2$. (M_r 60,1). 1036500. [107-15-3]. 1,2-Diamminoetano. Etan-1,2-diammina.

Liquido fumante, incolore, limpido, fortemente alcalino, miscibile con acqua e con alcool, poco solubile in etere.

p.e.: circa 116 °C.

Etilene bis[3,3-di(3-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil)butirrato]. $C_{50}H_{66}O_8$. (M_r 795). 1035900. [32509-66-3]. Etilene bis[3,3-di(3-*tert*-butil-4-idrossifenil)butirrato].

Polvere cristallina, praticamente insolubile in acqua e in etere di petrolio, solubilissima in acetone, in etere e in metanolo.

p.f.: circa 165 °C.

Etilene bis[3,3-di(3-*tert*-butil-4-idrossifenil)butirrato]. 1035900. [32509-66-3]. Vedere *etilene bis[3,3-di(3-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil)butirrato] R*.

Etilene cloruro. Vedere *dicloroetano R*.

Etilene ossido. Vedere *ossido di etilene R*.

2-Etil-1,3-esandiolo. $C_8H_{18}O_2$. (M_r 146,2). 1105900. [94-96-2].

Liquido leggermente oleoso, solubile in etanolo, 2-propanolo, glicole propilenico ed olio di ricino.

d_{20}^{20} : circa 0,942.

n_D^{20} : circa 1,451.

p.e.: circa 244 °C.

Etilenglicole. Vedere *glicole etilenico R*.

Etilenglicole etere monoetilico. Vedere *glicole etilenico monoetiletere R*.

Etilenglicole etere monometilico. Vedere *glicole etilenico monometiletere R*.

N-Etilmaleimide. $C_6H_7NO_2$. (M_r 125,1). 1036700. [128-53-0]. 1-Etil-1*H*-pirrol-2,5 dione.

Cristalli incolori, moderatamente solubili in acqua, molto solubili in alcool.

p.f.: da 41 °C a 45 °C.

Conservare ad una temperatura di 2-8 °C.

Etilmetilchetone. Vedere *metiletilchetone R*.

2-Etilpiridina. C_7H_9N . (M_r 107,2) 1133400. [100-71-0].

Liquido incolore o brunoastro.

d_{20}^{20} : circa 0,939.

n_D^{20} : circa 1,496.

p.e.: circa 149 °C.

Etilvinilbenzene-divinilbenzene copolimero. 1036900.

Granuli polimerici rigidi, porosi, reticolati. Sono disponibili molte qualità con diverse dimensioni dei granuli. L'intervallo della dimensione dei granuli è specificato dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Etilvinilbenzene-divinilbenzene copolimero R1. 1036901.

Granuli polimerici reticolati, rigidi, porosi, con un'area superficiale specifica nominale di 500-600 m²/g e aventi pori con un diametro medio di 7,5 nm. Sono disponibili molte qualità di granuli di diverse dimensioni. L'intervallo della dimensione delle sfere è specificato dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Etion. C₉H₂₂O₄P₂S₄. (M_r 384,5). 1127100. [563-12-2].
p.f.: da - 24 °C a - 25 °C.

Può essere utilizzata una idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Etossicrisoidina cloridrato. C₁₄H₁₇ClN₄O. (M_r 292,8). 1035200. [2313-87-3]. 2,4-Diammino-4'-etossiazobenzene cloridrato. 4-[(4-Etossifenil)diazenil]fenilen-1,3-diammina cloridrato.

Polvere rossastra, solubile in alcool.

Etossicrisoidina soluzione. 1035201.

Soluzione 1 g/l in alcool R.

Saggio di sensibilità. Ad una miscela di 5 ml di *acido cloridrico diluito R* e 0,05 ml di *etossicrisoidina soluzione* aggiungere 0,05 ml di *bromuro bromato 0,0167 M*. La colorazione vira dal rosso al giallo chiaro entro 2 min.

Eugenolo. C₁₀H₁₂O₂. (M_r 164,2). 1037000. [97-53-0]. 4-(2-Propenil)-2-metossifenolo.

Liquido oleoso, incolore o giallo pallido, che imbrunisce e diventa più viscoso per esposizione all'aria e alla luce, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool, con etere e con gli oli grassi ed essenziali.

*d*₂₀²⁰: circa 1,07.

p.e.: circa 250 °C.

L'eugenolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Garofano essenza (1091)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Conservare al riparo dalla luce.

Euglobuline bovine. 1037100.

Usare sangue bovino fresco raccolto in una soluzione anticoagulante (per esempio, sodio citrato soluzione). Eliminare tutto il sangue emolizzato. Centrifugare a 1500-1800 g ad una temperatura di 15-20 °C per ottenere un plasma sopranatante povero in piastrine.

Ad 1 litro di plasma bovino aggiungere 75 g di *bario solfato R* e agitare per 30 min. Centrifugare a non meno di

1500-1800 g ad una temperatura di 15-20 °C e raccogliere il liquido sopranatante limpido. Aggiungere 10 ml di una soluzione di *aprotinina R* contenente 0,2 mg/ml e agitare per garantire il mescolamento. In una camera a 4 °C, introdurre 25 litri di *acqua distillata R* a 4 °C in un recipiente con una capacità minima di almeno 30 litri, e aggiungere circa 500 g di ghiaccio secco. Aggiungere immediatamente, agitando, il liquido sopranatante ottenuto dal plasma. Si forma un precipitato bianco. Lasciare sedimentare a 4 °C per 10-15 h. Rimuovere la soluzione sopranatante limpida con un sifone. Raccogliere il precipitato mediante centrifugazione a 4 °C. Sospendere il precipitato mediante dispersione meccanica in 500 ml di *acqua distillata R* a 4 °C, agitare per 5 min e raccogliere il precipitato centrifugando a 4 °C. Disperdere il precipitato meccanicamente in 60 ml di una soluzione contenente (9 g/l) di *sodio cloruro R* e (0,9 g/l) di *sodio citrato R* e portare il pH a 7,2-7,4 per aggiunta di una soluzione (10 g/l) di *sodio idrossido R*. Filtrare su un filtro di vetro sinterizzato; per facilitare la dissoluzione del precipitato tritare le particelle del precipitato con uno strumento adatto. Lavare il filtro e lo strumento con 40 ml della soluzione cloruro-citrato descritta in precedenza e diluire a 100 ml con la stessa soluzione. Liofilizzare la soluzione. Le rese sono generalmente di 6-8 g di euglobuline per litro di plasma bovino.

Saggio di idoneità. Per questo saggio, preparare le soluzioni usando *tampone fosfato soluzione a pH 7,4 R* contenente 30 g/l di *albumina bovina R*.

In una provetta con diametro di 8 mm posta a b.m. a 37 °C introdurre 0,2 ml di una soluzione di una preparazione di riferimento di urochinasi contenente 100 U.I. per millilitro e 0,1 ml di una soluzione di *trombina umana R* contenente 20 U.I. per millilitro. Aggiungere rapidamente 0,5 ml di una soluzione contenente 10 mg di euglobuline bovine per millilitro. Si forma un coagulo solido in meno di 10 s. Annotare il tempo che intercorre tra l'aggiunta della soluzione di euglobuline bovine e la lisi del coagulo. Il tempo di lisi non è superiore a 15 min.

Conservare al riparo dall'umidità a 4 °C ed usare entro 1 anno.

Euglobuline umane. 1037200.

Per la preparazione usare sangue umano fresco raccolto in una soluzione anticoagulante (per esempio sodio citrato soluzione) o sangue umano per trasfusioni, raccolto in sacche di plastica per il sangue, che abbiano appena raggiunto la data di scadenza. Scartare l'eventuale sangue emolizzato. Centrifugare a 1500-1800 g a 15 °C fino ad ottenere un plasma sopranatante povero in piastrine. Si possono mescolare gruppi equivalenti.

Ad 1 litro di plasma aggiungere 75 g di *bario solfato R* e agitare per 30 min. Centrifugare a non meno di 15000 g a 15 °C e aspirare il liquido sopranatante lim-

vido. Aggiungere 10 ml di una soluzione di *aprotinina R* contenente 0,2 mg/ml e agitare per garantire il mescolamento. In un recipiente della capacità di almeno 30 litri in una camera a 4 °C, introdurre 25 litri di *acqua distillata R* a 4 °C e aggiungere circa 500 g di ghiaccio secco. Aggiungere immediatamente agitando il liquido sopranatante ottenuto dal plasma. Si forma un precipitato bianco. Lasciar sedimentare a 4 °C per 10-15 h. Rimuovere la soluzione sopranatante limpida con un sifone. Raccogliere il precipitato centrifugando a 4 °C. Sospendere il precipitato mediante dispersione meccanica in 500 ml di *acqua distillata R* a 4 °C, agitare per 5 min e raccogliere il precipitato mediante centrifugazione a 4 °C. Disperdere il precipitato meccanicamente in 60 ml di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* e (0,9 g/l) di *sodio citrato R*, e portare il pH a 7,2-7,4 con l'aggiunta di una soluzione (10 g/l) di *sodio idrossido R*. Filtrare su un filtro di vetro sinterizzato; per facilitare la dissoluzione del precipitato tritare le particelle con uno strumento adatto. Lavare il filtro e lo strumento con 40 ml della soluzione cloruro-citrato descritta sopra e diluire a 100 ml con la stessa soluzione. Liofilizzare la soluzione. Le rese sono generalmente di 6-8 g di euglobuline per litro di plasma umano.

Saggio di idoneità. Per questo saggio, preparare le soluzioni usando *tampone fosfato soluzione a pH 7,2 R* contenente 30 g/l di *albumina bovina R*. In una provetta con un diametro di 8 mm, posta a b.m. a 37 °C introdurre 0,1 ml di una soluzione di una preparazione di riferimento di streptochinasi contenente 10 U.I. di attività streptochinasica per millilitro e 0,1 ml di una soluzione di *trombina umana R* contenente 20 U.I. per millilitro. Aggiungere rapidamente 1 ml di una soluzione contenente 10 mg di euglobuline umane per millilitro. Si forma un coagulo solido in meno di 10 s. Annotare il tempo che intercorre tra l'aggiunta della soluzione di euglobuline umane e la lisi del coagulo. Il tempo di lisi non supera i 15 min.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso a 4 °C e usare entro 1 anno.

Fattore V di coagulazione del sangue soluzione. 1021400.

La soluzione del fattore V di coagulazione del sangue può essere preparata con il metodo seguente o mediante qualunque altro metodo che escluda il fattore VIII.

Preparare il reattivo del fattore V dal plasma bovino fresco trattato con ossalato, mediante frazionamento a 4 °C con una soluzione satura di *ammonio solfato R* preparata a 4 °C. Separare la frazione che precipita tra il 38 per cento e il 50 per cento di saturazione, che contiene il fattore V senza contaminazione significativa con il fattore VIII. Rimuovere l'ammonio solfato per dialisi e diluire la soluzione con una soluzione (9 g/l)

di *sodio cloruro R* per ottenere una soluzione contenente tra il 10 per cento e il 20 per cento della quantità di fattore V presente nel plasma umano normale fresco.

Determinazione del contenuto del fattore V. Preparare due diluizioni della preparazione del fattore V in *tampone imidazolo soluzione a pH 7,3 R* contenente 1 volume della preparazione, rispettivamente in 10 volumi e in 20 volumi della soluzione tampone. Saggiare ogni diluizione come segue: mescolare 0,1 ml di *plasma substrato privo di fattore V R*, 0,1 ml della soluzione in esame, 0,1 ml di *tromboplastina reattivo R* e 0,1 ml di una soluzione (3,5 g/l) di *calcio cloruro R* e misurare il tempo di coagulazione, cioè l'intervallo tra il momento in cui si aggiunge la soluzione di calcio cloruro e il primo accenno di formazione di fibrina, che può essere osservato visivamente o mediante un apparecchio adatto.

Nello stesso modo, determinare il tempo di coagulazione (in duplicato) di quattro diluizioni di plasma umano normale in *tampone imidazolo soluzione a pH 7,3 R*, contenente rispettivamente, 1 volume in 10 (equivalente al 100 per cento di fattore V), 1 volume in 50 (20 per cento), 1 volume in 100 (10 per cento) e 1 volume in 1000 (1 per cento). Riportare su carta logaritmica la media dei tempi di coagulazione per ciascuna diluizione del plasma umano rispetto alla percentuale equivalente del fattore V e ricavare, per estrapolazione, la percentuale del fattore V per le due diluizioni della soluzione del fattore V. La media dei due risultati dà la percentuale del fattore V nella soluzione in esame.

Conservare la soluzione congelata ad una temperatura non superiore a -20 °C.

Fattore Xa bovino di coagulazione del sangue. 1037300. [9002-05-5].

Enzima che converte la protrombina in trombina. La preparazione semi-purificata è ottenuta dal plasma liquido bovino e può essere preparata mediante attivazione dello zimogeno del fattore X con un attivatore adatto come il veleno della vipera di Russell.

Conservare la preparazione liofilizzata a -20 °C e la soluzione congelata ad una temperatura inferiore a -20 °C.

Fattore Xa bovino soluzione. 1037301.

Ricostituire come indicato dal produttore e diluire con *tampone tris(idrossimetil) amminometano-sodio cloruro soluzione a pH 7,4 R*.

Un'eventuale variazione nell'assorbanza della soluzione, misurata a 405 nm (2.2.25) rispetto al *tampone tris(idrossimetil)amminometano-sodio cloruro soluzione a pH 7,4 R* usato come bianco non è superiore a 0,15-0,20 per minuto.

α -Fellandrene. C₁₀H₁₆. (*M_r* 136,2). 1130400. [4221-98-1]. (*R*)-5-Isopropil-2-metil-cicloesa-1,3-diene. (-)-*p*-Menta-1,5-diene.

d_{20}^{20} : circa 0,839.

n_D^{20} : circa 1,471.

$[\alpha]_D^{22}$: circa -217.

p.e.: da 171 °C a 174 °C.

L' α -Fellandrene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Eucalipto essenza (0390)* usando la sostanza da esaminare come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Fenantrene. C₁₄H₁₀. (*M_r* 178,2). 1063200. [85-01-8].

Cristalli bianchi, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in etere, moderatamente solubili in alcool.

p.f.: circa 100 °C.

Fenantrolina cloridrato. C₁₂H₉ClN₂·H₂O. (*M_r* 234,7). 1063300. [3829-86-5]. 1,10-Fenantrolina cloridrato monoidrato.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, molto solubile in acqua, solubile in alcool.

p.f.: circa 215 °C, con decomposizione.

Fenazone. 1063400. [60-80-0]. Vedere la monografia *Fenazone (0421)*.

Fenclorfos. C₈H₈Cl₃O₃PS. (*M_r* 321,5). 1127200. [299-84-3].

p.f.: circa 35 °C

Può essere utilizzata una idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in cicloesano).

Fencone. C₁₀H₁₆O. (*M_r* 152,2). 1037600. [7787-20-4]. 1,3,3-Trimetilbicyclo[2.2.1]eptan-2-one.

Liquido oleoso, miscibile con alcool e con etere, praticamente insolubile in acqua.

n_D^{20} : circa 1,46.

p.e._{15mm}: circa 66 °C.

Il fencone utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Finocchio amaro (0824)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Fenilalanina. 1064100. [63-91-2]. Vedere la monografia *Fenilalanina (0782)*.

Fenile isotiocianato. C₇H₅NS. (*M_r* 135,2). 1121500. [103-72-0].

Liquido, insolubile in acqua, solubile in alcool.

d_{20}^{20} : circa 1,13.

n_D^{20} : circa 1,65.

p.e.: circa 221 °C.

p.f.: circa -21 °C.

Usare un grado di purezza adatto per la sequenza proteica.

p-Fenilendiammina dicloridrato. C₆H₁₀Cl₂N₂. (*M_r* 181,1). 1064200. [615-28-1]. 1,4-Diamminobenzene dicloridrato.

Polvere cristallina o cristalli bianchi o leggermente colorati, che diventano rossastri per esposizione all'aria, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool e in etere.

α -Fenilglicina. C₈H₉NO₂. (*M_r* 151,2). 1064300. [2835-06-5]. Acido (*RS*)-2-ammino-2-fenilacetico.

Fenilidrazina cloridrato. C₆H₉ClN₂. (*M_r* 144,6). 1064500. [59-88-1].

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, che imbrunisce per esposizione all'aria, solubile in acqua e in alcool.

p.f.: circa 245 °C, con decomposizione.

Conservare al riparo dalla luce.

Fenilidrazina cloridrato soluzione. 1064501.

Disciogliere 0,9 g di *fenilidrazina cloridrato R* in 50 ml di *acqua R*. Decolorare con *carbone attivato R* e filtrare. Al filtrato aggiungere 30 ml di *acido cloridrico R* e diluire a 250 ml con *acqua R*.

Fenilidrazina cloridrato soluzione solforica. 1064502.

Disciogliere 65 mg di *fenilidrazina cloridrato R*, precedentemente ricristallizzata da *alcool all'85 per cento V/V R*, in una miscela di 80 volumi di *acqua R* e 170 volumi di *acido solforico R* e diluire a 100 ml con la stessa miscela di solventi. Preparare immediatamente prima dell'uso.

1-Fenilpiperazina. C₁₀H₁₄N₂. (*M_r* 162,2). 1130500. [92-54-6].

Liquido giallo leggermente viscoso, non miscibile con acqua.

d_4^{20} : circa 1,07.

n_D^{20} : circa 1,588.

Fenoltaleina. C₂₀H₁₄O₄. (*M_r* 318,3). 1063700. [77-09-8]. 3,3-Bis(4-idrossifenil)-3*H*-isobenzofuran-1-one.

Polvere bianca o bianco-giallastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

Fenoltaleina cartina. 1063704.

Immergere le strisce di carta da filtro per pochi minuti in *fenoltaleina soluzione R*. Essiccare.

Fenolftaleina soluzione. 1063702.

Disciogliere 0,1 g di *fenolftaleina R* in 80 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. A 0,1 ml della soluzione di fenolftaleina aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. La soluzione è incolore. Non sono necessari più di 0,2 ml di *sodio idrossido 0,02 M* per far virare la colorazione al rosa.

Viraggio. Da pH 8,2 (incolore) a pH 10,0 (rosso).

Fenolftaleina soluzione R1. 1063703.

Soluzione 10 g/l in *alcool R*.

Fenolftaleina cartina. 1063704. Immergere strisce di carta da filtro per alcuni minuti in *fenolftaleina soluzione R*. Lasciare asciugare.

Fenolo. 1063500. [108-95-2]. Vedere la monografia *Fenolo (0631)*.

Fenossibenzammina cloridrato. $C_{18}H_{23}Cl_2NO$. (M_r 340,3). 1063900. *N*-(2-Cloroetil)-*N*-(1-metil-2-fenossietil)-benzilammina cloridrato.

Contiene non meno del 97,0 per cento e non più dell'equivalente del 103,0 per cento di $C_{18}H_{23}Cl_2NO$, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, moderatamente solubile in acqua, molto solubile in alcool.

p.f.: circa 138 °C.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,5 per cento, determinata mediante essiccamento su *anidride fosforica R* ad una pressione non superiore a 670 Pa per 24 h.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 0,500 g in 50,0 ml di *cloroformio esente da etanolo R* e estrarre con tre porzioni, ciascuna da 20 ml, di *acido cloridrico 0,01 M*. Scartare gli estratti acidi, filtrare lo strato di cloroformio su cotone e diluire 5,0 ml del filtrato a 500,0 ml con *cloroformio esente da etanolo R*. Misurare l'assorbanza della soluzione ottenuta in una cella chiusa al massimo di assorbimento a 272 nm.

Calcolare il contenuto di $C_{18}H_{23}Cl_2NO$, considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 56,3.

Conservare al riparo dalla luce.

Fenossietanolo. $C_8H_{10}O_2$. (M_r 138,2). 1064000. [122-99-6]. 2-Fenossietanolo.

Liquido oleoso, incolore, limpido, poco solubile in acqua, molto solubile in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 1,11.

n_D^{20} : circa 1,537.

Punto di solidificazione (2.2.18). Non inferiore a 12 °C.

Fenvalerate. $C_{25}H_{22}ClNO_3$. (M_r 419,9). 1127300. [51630-58-1].

p.e.: circa 300 °C.

Può essere utilizzata una idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Ferro. Fe. (A_r 55,85). 1046600. [7439-89-6].

Polvere o fili grigi, solubili negli acidi minerali diluiti.

Ferrocifene. $C_{26}H_{16}FeN_6$. (M_r 468,3). 1038000. [14768-11-7]. Dicianobis(1,10-fenantrolina)ferro(II).

Polvere cristallina, bronzo-violetta, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Conservare al riparo dalla luce e dall'umidità.

Ferro(-ico) ammonico solfato. $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$. (M_r 482,2). 1037700. [7783-83-7]. Ferro ammonio disolfato dodecaidrato.

Cristalli violetto pallido, efflorescenti, solubilissimi in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R1.

Disciogliere 0,2 g di *ferro(-ico) ammonico solfato R* in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 5 ml di *acido nitrico R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2. 1037702.

Soluzione 100 g/l. Se necessario filtrare prima dell'uso.

Ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R4.

Disciogliere 5 g di *ferro(-ico) ammonico solfato R* in *acqua R*. Aggiungere, raffreddando, 11 ml di *acido solforico R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R5. 1037704.

Agitare 30,0 g di *ferro(-ico) ammonico solfato R* con 40 ml di *acido nitrico R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Se la soluzione è torbida, centrifugarla o filtrarla.

Conservare al riparo dalla luce.

Ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R6. 1037705.

Disciogliere 20 g di *ferro(-ico) ammonico solfato R* in 75 ml di *acqua R*, aggiungere 10 ml di una soluzione al 2,8 per cento V/V di *acido solforico R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Ferro(-ico) ammonio solfato. Vedere *ferro(-ico) ammonico solfato R*.

Ferro(-ico) cloruro. $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. (M_r 270,3). 1037800. [10025-77-1]. Ferro tricloruro esaidrato.

Masse cristalline arancione-giallastre o brunastre, deliquescenti, solubilissime in acqua, solubili in alcool e in etere. Per esposizione alla luce, il ferro(-ico) cloruro e le sue soluzioni sono parzialmente ridotte.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Ferro(-ico) cloruro soluzione R1. 1037801.

Soluzione 105 g/l.

Ferro(-ico) cloruro soluzione R2. 1037802.

Soluzione 13 g/l.

Ferro(-ico) cloruro soluzione R3. 1037803.

Disciogliere 2,0 g di *ferro(-ico) cloruro R* in *etanolo R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Ferro(-ico) cloruro-acido solfammico reattivo. 1037804.

Soluzione contenente 10 g/l di *ferro(-ico) cloruro R* e 16 g/l di *acido solfammico R*.

Ferro(-ico) cloruro in acido acetico.

Disciogliere, agitando, 75 mg di *ferro(-ico) cloruro R* in 50 ml di *acido acetico anidro R*. Dopo raffreddamento aggiungere 50 ml di *acido solforico R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ferro(-ico) nitrato. $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. (M_r 404). 1106100. [7782-61-8].

Contiene non meno del 99,0 per cento *m/m* di $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.

Cristalli porpora chiaro o massa cristallina, solubilissimi in acqua.

Acido libero: non più dello 0,3 per cento (come HNO_3).

Ferro(-ico) solfato. $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. 1037900. [10028-22-5]. Ferro(III) trisolfato idratato.

Polvere bianco-giallastra, molto igroscopica, si decompone all'aria, poco solubile in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Ferro(-oso) ammonico solfato. $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. (M_r 392,2). 1038200. [7783-85-9]. Ferro diammonio disolfato esaidrato.

Cristalli o granuli verde-bluastro pallido, molto solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Conservare al riparo dalla luce.

Ferro(-oso) ammonio solfato. Vedere *ferro(-oso) ammonico solfato R*

Ferro(-oso) solfato. 1038300. [7782-63-0]. Vedere la monografia *Ferroso solfato (0083)*.

Ferro(-oso) solfato soluzione R2. 1038301.

Disciogliere 0,45 g di *ferro(-oso) solfato R* in 50 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e diluire a 100 ml con *acqua esente da anidride carbonica R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ferroina. 1038100. [14634-91-4].

Disciogliere 0,7 g di *ferro(-oso) solfato R* e 1,76 g di *fenantrolina cloridrato R* in 70 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Saggio di sensibilità. A 50 ml di *acido solforico diluito R* aggiungere 0,15 ml di *osmio tetrossido soluzione R* e 0,1 ml di ferroina. Dopo l'aggiunta di 0,1 ml di *ammonio e cerio nitrato 0,1 M* la colorazione vira dal rosso al blu chiaro.

Ferro salicilato soluzione. 1046700.

Disciogliere 0,1 g di *ferro(-ico) ammonico solfato R* in una miscela di 2 ml di *acido solforico diluito R* e 48 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Aggiungere 50 ml di una soluzione (11,5 g/l) di *sodio salicilato R*, 10 ml di *acido acetico diluito R*, 80 ml di una soluzione (136 g/l) di *sodio acetato R* e diluire a 500 ml con *acqua R*. Utilizzare una soluzione preparata di recente.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Fibrina blu. 1101400.

Mescolare 1,5 g di fibrina con 30 ml di una soluzione (5 g/l) di *carminio indaco R* in *acido cloridrico diluito R* all'1 per cento *V/V*. Scaldare la miscela a 80 °C e mantenere sotto agitazione a questa temperatura per 30 min circa. Lasciar raffreddare. Filtrare. Lavare accuratamente mediante risospensione in *acido cloridrico diluito R* all'1 per cento *V/V* e mescolare per 30 min circa; filtrare. Ripetere l'operazione di lavaggio tre volte. Essiccare a 50 °C. Triturare.

Fibrina rosso Congo. 1038400.

Prelevare 1,5 g di fibrina e lasciarla durante la notte in 50 ml di una soluzione (20 g/l) di *rosso Congo R* in *alcool al 90 per cento V/V R*. Filtrare, sciacquare la fibrina con *acqua R* e conservare in *etere R*.

Fibrinogeno. 1038500. [9001-32-5]. Vedere la monografia *Fibrinogeno umano liofilizzato (0024)*.

Floroglucina. $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. (M_r 162,1). 1064600. [6099-90-7]. Benzen-1,3,5-triolo diidrato.

Cristalli bianchi o giallastri, poco solubili in acqua, solubili in alcool.

p.f.: circa 223 °C (metodo istantaneo).

Floroglucina soluzione. 1064601.

Ad 1 ml di una soluzione (100 g/l) di *floroglucina R* in *alcool R*, aggiungere 9 ml di *acido cloridrico R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Flumazenil. 1149600. [78755-81-4].

Vedere la monografia *Flumazenil (1326)*.

Fluorantene. $\text{C}_{16}\text{H}_{10}$. (M_r 202,3). 1038600. [206-44-0]. 1,2-(1,8-Naftilen)benzene. 1,2-Benzacenaftene.

Cristalli da giallo a marrone-giallastro chiaro.

p.e.: circa 384 °C.

p.f.: da 109 °C a 110 °C.

Fluorene. $\text{C}_{13}\text{H}_{10}$. (M_r 166,2). 1127400. [86-73-7]. Difenilenmetano.

Cristalli bianchi, molto solubili in acido acetico anidro, solubili in alcool caldo.

p.f.: da 113 °C a 115 °C.

Fluorescamina. $C_{17}H_{10}O_4$. (M_r 278,3) 1135800. [38183-12-9]. 4-Fenilspiro[furan-2(3*H*), 1'(3'*H*)-isobenzofuran]-3,3'-dione.

p.f.: da 154 °C a 155 °C.

Fluoresceina. $C_{20}H_{12}O_5$. (M_r 332,3). 1106300. [2321-07-5]. 3',6' - Diidrossispiro [isobenzofurano - 1 (3*H*),9'-[9*H*]xanten]-3-one.

Polvere rosso-arancione, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool caldo, praticamente insolubile in etere, solubile in soluzioni alcaline. In soluzione, la fluoresceina mostra una fluorescenza verde.

p.f.: circa 315 °C.

Fluoresceina sodica. Vedere *sodio fluoresceinato R*.

Fluorodinitrobenzene. $C_6H_3FN_2O_4$. (M_r 186,1). 1038800. [70-34-8]. 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene.

Cristalli giallo pallido, solubili in etere e in glicole propilenico.

p.f.: circa 29 °C.

1-Fluoro-2-nitro-4-(trifluorometil)benzene.

$C_7H_3F_4NO_2$. (M_r 209,1). 1038900. [367-86-2].

p.f.: circa 197 °C.

2-Fluoro-2-desossi-D-glucosio. $C_6H_{11}FO_5$. (M_r 182,2). 1113900. [86783-82-6].

Polvere cristallina bianca.

p.f.: da 174 °C a 176 °C.

Formaldeide. 1039100. [50-00-0]. Vedere la monografia *Formaldeide soluzione 35 per cento (0826)*.

Formaldeide soluzione. 1039101. Vedere la monografia *Formaldeide soluzione 35 per cento (0826)*.

Formammide. CH_3NO . (M_r 45,0). 1039200. [75-12-7].

Liquido oleoso, incolore, limpido, igroscopico, miscibile con acqua e con alcool. Si idrolizza in acqua.

p.e.: circa 103 °C, determinato ad una pressione di 2 kPa.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Formammide R1. 1039202.

Soddisfa ai requisiti prescritti per la *formammide R* e all'ulteriore saggio seguente:

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,1 per cento determinato con un volume uguale di *metanolo anidro R*.

Formammide trattata. 1039201.

Disperdere 1,0 g di *acido solfammino R* in 20,0 ml di *formammide R* contenente il 5 per cento (*V/V*) di *acqua R*.

Fosalone. $C_{12}H_{15}ClNO_4PS_2$. (M_r 367,8). 1130200. [2310-17-0].

p.f.: da 45 °C a 48 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

Fosfato dipotassico. Vedere *potassio fosfato dibasico R*.

Fosfato disodico. Vedere la monografia *Sodio fosfato dibasico dodecaidrato (0118)*.

Fosfato disodico anidro. Vedere *sodio fosfato dibasico anidro R*.

Fosfato disodico diidrato. Vedere la monografia *Sodio fosfato dibasico diidrato (0602)*.

Fosfato monopotassico. Vedere *potassio fosfato monobasico R*.

Fosfato monosodico anidro. Vedere *sodio fosfato monobasico anidro R*.

Fosfato trisodico dodecaidrato. Vedere *sodio fosfato tribasico dodecaidrato R*.

Fosfolipidi. 1064800.

Lavare una quantità di cervello umano o bovino, ben separato dalle meningi e dai vasi sanguigni e omogeinizzarlo in un apparecchio adatto. Pesare 1000-1300 g della sostanza omogeinizzata e misurare il volume (*V* ml). Estrarre con tre porzioni, ciascuna da 4*V* ml, di *acetone R*, filtrare a pressione ridotta e essiccare il residuo a 37 °C per 18 h. Estrarre il residuo con due porzioni, ciascuna da 2*V* ml, di una miscela di 2 volumi di *etere di petrolio R2* e 3 volumi di *etere di petrolio R1*, filtrando ciascun estratto su carta da filtro precedentemente umidificata con la miscela dei solventi. Riunire gli estratti e evaporare a secco a 45 °C ad una pressione non superiore a 670 Pa. Disciogliere il residuo in 0,2*V* ml di *etere R* e lasciare a riposo a 4 °C fino a formazione di deposito. Centrifugare e evaporare il liquido soprannatante limpido sotto bassa pressione fino al volume di 100 ml per chilogrammo della sostanza omogeinizzata e pesare. Lasciare a riposo a 4 °C fino a formazione di un precipitato (per 12-24 h) e centrifugare. Aggiungere al liquido soprannatante limpido un volume di *acetone R* pari a cinque volte il suo volume, centrifugare ed eliminare il liquido soprannatante. Essiccare il precipitato.

Conservare in un essiccatore sotto vuoto al riparo dalla luce.

Fosfomolibdotungstico reattivo. 1065000.

Disciogliere 100 g di *sodio tungstato R* e 25 g di *sodio molibdato R* in 700 ml di *acqua R*. Aggiungere 100 ml di *acido cloridrico R* e 50 ml di *acido fosforico R*. Scaldare a ricadere la miscela in un apparecchiatura di vetro per 10 h. Aggiungere 150 g di *litio solfato R*, 50 ml di *acqua R* e qualche goccia di *bromo R*. Bollire

fino a rimuovere l'eccesso di bromo (15 min), raffreddare, diluire a 1000 ml con *acqua R* e filtrare. Il reattivo dovrebbe essere giallo. Se assume una colorazione verdastro, è inadeguato per l'uso ma può essere rigenerato per ebollizione con alcune gocce di *bromo R*. Eliminare ogni eccesso di bromo per ebollizione.

Conservare a 2-8 °C.

Fosfomolibdotungstico reattivo diluito. 1065001.

Ad 1 volume di *fosfomolibdotungstico reattivo R* aggiungere 2 volumi di *acqua R*.

Fosforo pentossido. Vedere *anidride fosforica R*.

Fruttosio. 1106400. [57-48-7]. Vedere la monografia *Fruttosio (0188)*.

Ftalaldeide. Vedere *aldeide ftalica R*.

Ftalazina. C₈H₆N₂. (M_r 130,1). 1065400. [253-52-1].

Cristalli giallo pallido molto solubili in acqua, solubili in etanolo, in etile acetato e in metanolo, moderatamente solubili in etere.

p.f.: da 89 °C a 92 °C.

Ftaleina porpora. C₃₂H₃₂N₂O₁₂.xH₂O. (M_r 637, sostanza anidra). 1065500. [2411-89-4]. Metalftaleina. Porpora ftaleina. Acido (1,3-diidro-3-oxo-isobenzofuran-1-iliden)bis[(6-idrossi-5-metil-3,1-fenilen)bis(metilnimmino)diacetico]. Acido 2,2',2'',2'''-[*o*-cresolftalein-3',3''-bis(metilenenitrilo)]tetracetico.

Polvere da bianco-giallastra a brunastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool. Il prodotto si può trovare in commercio sotto forma di sale sodico: polvere da bianco-giallastra a rosa, solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool.

Saggio di sensibilità. Disciogliere 10 mg in 1 ml di *ammoniaca concentrata R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. A 5 ml della soluzione aggiungere 95 ml di *acqua R*, 4 ml di *ammoniaca concentrata R*, 50 ml di *alcool R* e 0,1 ml di *bario cloruro 0,1 M*. La soluzione è violetta-blu. Aggiungere 0,15 ml di *sodio edetato 0,1 M*. La soluzione diventa incolore.

Fucosio. C₆H₁₂O₅. (M_r 164,2). 1039500. [6696-41-9]. 6-Desossi-L-galattosio.

Polvere bianca, solubile in acqua e in alcool.

[α]_D²⁰: circa - 76, determinato su una soluzione (90 g/l) 24 h dopo dissoluzione.

p.f.: circa 140 °C.

Fucsina basica. 1039400. [632-99-5]. Miscela di rosanilina cloridrato (C₂₀H₂₀ClN₃; M_r 337,9; Colour Index No. 42510; Schultz No. 780) e pararosanilina cloridrato (C₁₉H₁₈ClN₃; M_r 323,8; Colour Index No. 42500; Schultz No. 779).

Se necessario, purificare nel seguente modo. Disciogliere 1 g in 250 ml di *acido cloridrico diluito R*. Lasciare

a riposo per 2 h a temperatura ambiente, filtrare e neutralizzare con *sodio idrossido soluzione diluita R* e aggiungerne 1-2 ml in eccesso. Filtrare il precipitato attraverso un filtro di vetro sinterizzato (40) e lavare con *acqua R*. Disciogliere il precipitato in 70 ml di *metanolo R*, precedentemente riscaldato fino ad ebollizione, ed aggiungere 300 ml di *acqua R* a 80 °C. Lasciare raffreddare a temperatura ambiente, filtrare ed essiccare i cristalli sotto vuoto.

Cristalli con lucentezza bronzo-verdastra, solubili in acqua e in alcool.

Conservare al riparo dalla luce.

Fucsina decolorata soluzione. 1039401.

Disciogliere 0,1 g di *fucsina basica R* in 60 ml di *acqua R*. Aggiungere una soluzione contenente 1 g di *sodio solfito anidro R* o 2 g di *sodio solfito R* in 10 ml di *acqua R*. Aggiungere lentamente 2 ml di *acido cloridrico R*, agitando di continuo. Diluire a 100 ml con *acqua R*. Lasciare a riposo al riparo dalla luce per almeno 12 h, decolorare con *carbone attivato R* e filtrare. Se la soluzione diventa torbida, filtrare prima dell'uso. Se la soluzione diventa violetta con il passare del tempo, decolorare di nuovo mediante aggiunta di *carbone attivato R*.

Saggio di sensibilità. A 1,0 ml aggiungere 1,0 ml di *acqua R* e 0,1 ml di *alcool esente da aldeide R*. Aggiungere 0,2 ml di una soluzione contenente 0,1 g/l di formaldeide (CH₂O, M_r 30,0). Si sviluppa una colorazione rosa pallido entro 5 min.

Conservare al riparo dalla luce.

Fucsina decolorata soluzione R1. 1039402.

A 1 g di *fucsina basica R* aggiungere 100 ml di *acqua R*. Scaldare a 50 °C e lasciare raffreddare agitando di tanto in tanto. Lasciare a riposo per 48 h, agitare e filtrare. A 4 ml del filtrato aggiungere 6 ml di *acido cloridrico R*, mescolare e diluire a 100 ml con *acqua R*. Lasciare a riposo per almeno 1 h prima dell'uso.

Furfurolo. C₅H₄O₂. (M_r 96,1). 1039600. [98-01-1]. 2-Furaldeide. 2-Furancarbaldeide. Furfurale.

Liquido oleoso, limpido, da incolore a giallo-brunastro, miscibile in 11 parti di acqua, miscibile con alcool e con etere.

d₂₀²⁰: da 1,155 a 1,161.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 159 °C e 163 °C.

Conservare al buio.

Galattosio. C₆H₁₂O₆. (M_r 180,2). 1039700. [59-23-4]. D-(+)-Galattosio.

Polvere cristallina, bianca, molto solubile in acqua.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 79 a + 81, determinato su una soluzione (100 g/l) in acqua R contenente circa 0,05 per cento di NH_3 .

Gel di polimetacrilato idrossilato. 1151300.

Gel basato su un polimero idrossilato di acido metacrilico. Fase stazionaria per cromatografia di esclusione molecolare.

Gel di silice amminoesadecilsililato per cromatografia. 1138400.

Gel di silice suddiviso molto finemente (da 3 μm a 10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi amminoesadecilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice aminopropilmetilsililato per cromatografia. 1102400.

Gel di silice con una dimensione particellare molto fine (tra 3 μm e 10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi aminopropilmetilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, fine, bianca, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice aminopropilsililato per cromatografia. 1077000.

Gel di silice con una dimensione particellare fine (tra 3 μm e 10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi aminopropilsilile. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice anidro. 1076100. [112926-00-8].

Acido silicico amorfo, polimerizzato, parzialmente deidratato; a 20 °C assorbe acqua pari a circa il 30 per cento della sua massa. Contiene cobalto cloruro come indicatore. Praticamente insolubile in acqua, parzialmente solubile in soluzioni di sodio idrossido.

Gel di silice butilsililato per cromatografia. 1076200.

Gel di silice finemente suddiviso (3-10 μm) chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi butilsilile. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Silice sferoidale: 30 nm.

Volume dei pori: 0,6 cm^3 per grammo.

Area superficiale specifica: 80 m^2 per grammo.

Gel di silice cianosilato per cromatografia. 1109900.

Gel di silice finemente suddiviso, modificato chimicamente in superficie mediante legame con gruppi cianosililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, fine, bianca, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice derivatizzato con albumina umana per cromatografia. 1138500.

Gel di silice suddiviso molto finemente (da 3 μm a 10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con albumina umana. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine.

Gel di silice derivatizzato con amilosio per cromatografia. 1109800.

Gel di silice molto finemente suddiviso (10 μm), modificato chimicamente in superficie mediante legame con un derivato dell'amilosio. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice diisobutilottadecilsililato per cromatografia. 1140000.

Gel di silice molto finemente suddiviso, modificato chimicamente in superficie mediante legame con gruppi diisobutilottadecilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Gel di silice dimetilottadecilsililato per cromatografia. 1115100.

Gel di silice molto finemente suddiviso (3 μm - 10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi dimetilottadecilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool. Dimensione delle particelle non uniforme.

Area della superficie specifica: 300 m^2/g .

Gel di silice diolato per cromatografia. 1110000.

Particelle sferiche di silice alle quali sono legati gruppi diidrossipropilici. Dimensione dei pori 10 nm.

Gel di silice esilsililato per cromatografia. 1077100.

Gel di silice finemente suddiviso (3-10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante l'introduzione

di gruppi esilsilile. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice fenilato. 1075700.

Gel di silice finemente suddiviso (5 µm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi fenilici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua, in alcool e in diclorometano.

Silice sferoidale: 8 nm.

Area superficiale specifica: 180 m² per grammo.

Carbonio totale: 5,5 per cento.

Gel di silice fenilsililato per cromatografia. 1110200.

Gel di silice molto finemente suddiviso (5-10 µm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi fenilici.

Gel di silice fenilsililato per cromatografia R1. 1075700.

Gel di silice molto finemente suddiviso (5 µm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi fenilici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua, in alcool e in diclorometano.

Silice sferoidale: 8 nm.

Area della superficie specifica: 180 m²/g.

Carico di carbonio: 5,5 per cento.

Gel di silice G. 1076300. [112926-00-8].

Contiene circa il 13 per cento di calcio solfato emiidrato.

Polvere omogenea, bianca, fine, con una dimensione delle particelle di circa 15 µm.

Contenuto di calcio solfato. Deposce 0,25 g in una beuta con tappo a smeriglio, aggiungere 3 ml di *acido cloridrico diluito R* e 100 ml di *acqua R* e agitare vigorosamente per 30 min. Filtrare attraverso un filtro di vetro sinterizzato e lavare il residuo. Effettuare la determinazione complessometrica del calcio (2.5.11) sui filtrati e i lavaggi riuniti.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 14,51 mg di CaSO₄·½H₂O.

pH (2.2.3). Agitare 1 g per 5 min con 10 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della sospensione è circa 7.

Gel di silice 60. Polvere omogenea bianca. Porosità media 6 nm.

pH (2.2.3). Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice G R*.

Gel di silice 60 F₂₅₄. Polvere omogenea, bianca, fine con una dimensione media delle particelle compresa tra 60 µm e 200 µm.

pH (2.2.3). Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice G R*.

Fluorescenza. Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice GF₂₅₄ R*.

Gel di silice GF₂₅₄. 1076400. [112926-00-8].

Contiene circa il 13 per cento di calcio solfato emiidrato e circa l'1,5 per cento di un indicatore fluorescente avente un'intensità ottimale a 254 nm.

Polvere omogenea, bianca, fine con una dimensione delle particelle di circa 15 µm.

Contenuto di calcio solfato. Determinare mediante il metodo prescritto per il *gel di silice G R*.

pH (2.2.3). Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice G R*.

Fluorescenza. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27). Preparare una lastra usando gel di silice GF₂₅₄. Deposce separatamente sulla lastra, su dieci punti, volumi crescenti da 1 µl a 10 µl di una soluzione (1 g/l) di *acido benzoico R* in una miscela di 10 volumi di *acido formico anidro R* e 90 volumi di *2-propanolo R*. Eluire per un percorso di 10 cm con la stessa miscela di solventi. Dopo l'evaporazione dei solventi esaminare il cromatogramma alla luce ultravioletta a 254 nm. L'acido benzoico produce macchie scure su sfondo fluorescente nel terzo superiore del cromatogramma per quantità uguali e superiori a 2 µg.

Gel di silice H. 1076500. [112926-00-8].

Polvere omogenea, bianca, fine con una dimensione delle particelle di circa 15 µm.

pH (2.2.3). Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice G R*.

Gel di silice H silanizzato. 1076600.

Preparazione di uno strato sottile. Vedere *gel di silice HF₂₅₄ silanizzato R*.

Polvere omogenea bianca, fine, che, dopo essere stata agitata con acqua, galleggia in superficie per le sue proprietà idrorepellenti.

Separazione cromatografica. Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice HF₂₅₄ silanizzato R*.

Gel di silice HF₂₅₄. 1076700.

Contiene circa l'1,5 per cento di un indicatore fluorescente avente un'intensità ottimale a 254 nm.

Polvere omogenea, bianca, fine con una dimensione delle particelle di circa 15 µm.

pH (2.3.3). Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice G R*.

Fluorescenza. Soddisfa al saggio prescritto per il *gel di silice GF₂₅₄ R*.

Gel di silice HF₂₅₄ silanizzato. 1076800.

Contiene circa l'1,5 per cento di un indicatore fluorescente avente un'intensità ottimale a 254 nm.

Polvere omogenea, bianca, fine che, dopo agitazione con acqua, galleggia in superficie per le sue proprietà idrorepellenti.

Preparazione di uno strato sottile. Agitare vigorosamente 30 g con 60 ml di una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 2 volumi di *acqua R* per 2 min. Rivestire le lastre accuratamente pulite, con uno strato di 0,25 mm di spessore usando un dispositivo appropriato. Lasciare asciugare all'aria le lastre rivestite e poi essiccarle in stufa a 100-105 °C per 30 min.

Separazione cromatografica. Introdurre, rispettivamente, 0,1 g di *metile laurato R*, *metile miristato R*, *metile palmitato R* e *metile stearato R* in una beuta da 250 ml. Aggiungere 40 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica R* e scaldare a ricadere a b.m. per 1 h. Lasciare raffreddare, trasferire la soluzione in un imbuto separatore con 100 ml di *acqua R*, acidificare (pH 2-3) con *acido cloridrico diluito R* e agitare con tre porzioni, ciascuna da 10 ml, di *cloroformio R*. Essiccare gli estratti di cloroformio riuniti su *sodio solfato anidro R*, filtrare ed evaporare a secco a b.m. Disciogliere il residuo in 50 ml di *cloroformio R*. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando gel di silice HF₂₅₄ silanizzato come sostanza di rivestimento. Deposare sulla lastra, su tre punti separati, 10 µl della soluzione cloroformica. Eluire per un percorso di 14 cm con una miscela di 10 volumi di *acido acetico glaciale R*, 25 volumi di *acqua R* e 65 volumi di *diossano R*. Essiccare la lastra a 120 °C per 30 min. Lasciar raffreddare, spruzzare con una soluzione (35 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *2-propanolo R* e scaldare a 150 °C fino a che le macchie diventino visibili. Esporre la lastra a vapori di ammoniaca fino a che lo sfondo diventi bianco. I cromatogrammi presentano quattro macchie ben definite, nettamente separate.

Gel di silice idrofilo per cromatografia. 1077200.

Gel di silice molto finemente suddiviso (3-10 µm) con una superficie modificata allo scopo di conferire caratteristiche idrofile. La dimensione delle particelle può essere indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice nitrilato per cromatografia. 1077300.

Gel di silice molto finemente suddiviso, modificato in superficie mediante l'introduzione di gruppi cianopropilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua, in alcool e in etere.

Gel di silice nitrilato per cromatografia R1. 1077400.

Gel di silice molto finemente suddiviso, costituito da particelle sferiche, porose, con gruppi nitrilici legati chimicamente. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine praticamente insolubile in acqua, in alcool e in etere.

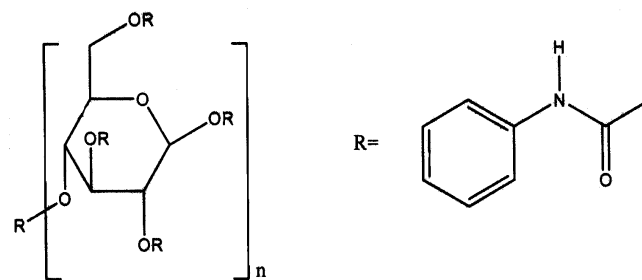
Gel di silice nitrilato per cromatografia R2. 1119500.

Gel di silice purissimo, chimicamente modificato in superficie mediante l'introduzione di gruppi cianopropilsililici. Meno di 20 ppm di metalli. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

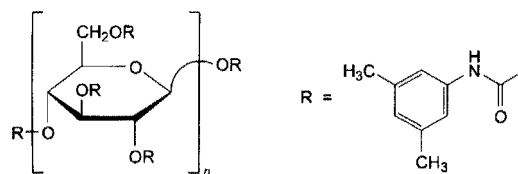
Gel di silice OC per separazioni chirali. 1146800.

Gel di silice per cromatografia, suddiviso (5 µm) molto finemente, ricoperto con il seguente derivato:



Gel di silice OD per separazioni chirali. 1110300.

Gel di silice per cromatografia molto finemente suddiviso (5 µm) ricoperto con il seguente derivato:



Gel di silice ottadecanoilamminopropilsililato per cromatografia. 1115200.

Gel di silice molto finemente suddiviso (da 3 µm a 10 µm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi amminopropilsililici i quali sono acilati con gruppi ottadecanoilici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottadecilsililato per cromatografia. 1077500.

Gel di silice molto finemente suddiviso (da 3 µm a 10 µm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi ottadecilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R1. 1110100.

Gel di silice ultrapuro chimicamente modificato in superficie mediante legame di gruppi ottadecilsililici. La dimensione delle particelle e dei pori e il carico di carbonio sono indicati dopo il nome dei reattivi, nei saggi in cui viene utilizzato. Contiene meno di 20 ppm di metalli.

Gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R2. 1115300.

Gel di silice purissimo, molto finemente suddiviso (dimensione dei pori 15 nm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi ottadecilsililici (20 per cento di carico di carbonio), ottimizzato per l'analisi di idrocarburi aromatici policiclici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottadecilsililato per cromatografia post-modificato (end-capped). 1115400.

Gel di silice molto finemente suddiviso (da 3 µm a 10 µm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi ottadecilsililici. Per minimizzare ogni interazione con i componenti basici è ulteriormente derivatizzato per bloccare la maggior parte dei gruppi silanolici rimanenti. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottadecilsililato per cromatografia disattivato. 1077600.

Gel di silice molto finemente suddiviso (3-10 µm), pretrattato, prima dell'introduzione di gruppi ottadecilsililati, mediante accurato lavaggio e idrolisi della maggior parte dei ponti superficiali silossanici per minimizzare l'interazione con i componenti basici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottadecilsililato per cromatografia disattivato post-modificato (end-capped). 1108600.

Gel di silice molto finemente suddiviso (3-10 µm), trattato, prima dell'introduzione di gruppi ottadecilsililati, mediante lavaggio e idrolisi della maggior parte dei ponti silossanici superficiali. Per minimizzare ulteriormente ogni interazione con i componenti basici è bloccato con cura alle estremità per proteggere la maggior parte dei gruppi silanolici rimanenti. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottilsililato per cromatografia. 1077700.

Gel di silice molto finemente suddiviso (3-10 µm), chimicamente modificato in superficie mediante l'introduzione di gruppi ottilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottilsililato per cromatografia R1. 1077701.

Gel di silice molto finemente suddiviso (da 3 µm a 10 µm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi ottilsililici e metilici (doppiamente legata). La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottilsililato per cromatografia R2. 1077702.

Gel di silice purissimo, molto finemente suddiviso (dimensione dei pori 10 nm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi ottilsililici (19 per cento di carico di carbonio). Meno di 20 ppm di metalli.

Gel di silice ottilsililato per cromatografia disattivato. 1131600.

Gel di silice molto finemente suddiviso (da 3 µm a 10 µm), trattato, prima dell'introduzione dei gruppi ottilsililici, mediante accurato lavaggio e idrolisi della maggior parte dei ponti silossanici superficiali per minimizzare l'interazione con i componenti basici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice ottilsililato per cromatografia post-modificato (end-capped). 1119600.

Gel di silice molto finemente suddiviso (da 3 µm a 10 µm), chimicamente modificato in superficie

mediante legame con gruppi ottilsililici. Per minimizzare ogni interazione con i componenti basici è ulteriormente derivatizzato per bloccare la maggior parte dei gruppi silanologici rimanenti. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi in cui viene utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice per cromatografia. 1076900.

Gel di silice finemente suddiviso (3-10 μm). La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel di silice per cromatografia modificato con gruppi cianopropilsililici. Vedere *gel di silice nitrilato per cromatografia R*.

Gel di silice per cromatografia modificato con gruppi nitrilici. Vedere *gel di silice nitrilato per cromatografia R1*.

Gel di silice per cromatografia per esclusione. 1077900.

Gel di silice suddiviso molto finemente (10 μm) con una superficie molto idrofilica. Il diametro medio dei pori è circa 30 nm. E' compatibile con soluzioni acquose tra pH 2 e pH 8 e con solventi organici. E' adatto per la separazione di proteine con masse molecolari relative di 1×10^3 e 3×10^5 .

Gel di silice a scambio anionico forte per cromatografia. 1077800.

Gel di silice molto finemente suddiviso (tra 3 μm e 10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante l'introduzione di gruppi ammoniaci quaternari. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua ed in alcool.

Limiti del pH di utilizzo: da 2 a 8.

Gel di silice trimetilsililato per cromatografia. 1115500.

Gel di silice molto finemente suddiviso (da 3 μm a 10 μm), chimicamente modificato in superficie mediante legame con gruppi trimetilsililici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è utilizzato.

Polvere omogenea, bianca, fine, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Gel polietere idrossilato per cromatografia. 1067000.

Gel con particelle di piccole dimensioni avente una superficie idrofila dotata di gruppi ossidrilici. Ha un limite di esclusione per il destrano di massa molecolare relativa pari a 2×10^5 e $2,5 \times 10^6$.

Gelatina. 1040000. [9000-70-8]. Vedere la monografia *Gelatina (0330)*.

Gelatina idrolizzata. 1040100.

Disciogliere 50 g di *gelatina R* in 1000 ml di *acqua R*. Porre in autoclave con vapore saturo a 121 °C per 90 min e liofilizzare.

Geranile acetato. $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$. (M_r 196,3). 1106500. [105-87-3]. (E)-3,7-Dimetilotta-2,6-dien-1-il-acetato.

Liquido incolore o leggermente giallo, con un debole odore di rosa e lavanda.

d_{25}^{25} : da 0,896 a 0,913.

n_D^{15} : circa 1,463.

p.e.₂₅: circa 138 °C.

Il geranile acetato usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza (1175)*, usando la sostanza in esame come soluzione in esame. L'area del picco principale non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Geraniolo. $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$. (M_r 154,2) 1135900. [106-24-1]. (E)-3,7-Dimetilotta-2,6-dien-1-olo.

Liquido oleoso, con leggero odore di rosa, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,890.

n_D^{20} : circa 1,477.

p.e.: da 229 °C a 230 °C.

Il geraniolo usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Citronella essenza (1609)*.

Il contenuto non è inferiore al 98,5 per cento calcolato con la procedura di normalizzazione.

Conservare in recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Giallo metanile. $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{NaO}_3$. (M_r 375,4). 1052900. [587-98-4]. Schultz No. 169. Colour Index No. 13065. Sodio 3-[4-(fenilammino)fenilazo]benzensolfonato.

Polvere giallo-brunastra, solubile in acqua e in alcool, molto poco solubile in etere.

Giallo metanile soluzione. 1052901.

Soluzione 1 g/l in *metanolo R*.

Saggio di sensibilità. A 50 ml di *acido acetico anidro R* aggiungere 0,1 ml di giallo metanile soluzione. Aggiungere 0,05 ml di *acido perclorico 0,1 M*; la colorazione vira dal rosso-rosato al violetto.

Viraggio. Da pH 1,2 (rosso) a pH 2,3 (giallo-arancione).

Giallo naftolo. $C_{10}H_5N_2NaO_5$. (M_r 256,2). 1136600. Sale monosodico dell'acido 2,4-dinitro-1-naftolo.

Polvere o cristalli giallo-aranciati, molto solubile in acqua, poco solubile in etanolo.

Giallo titanio. $C_{28}H_{19}N_5Na_2O_6S_4$. (M_r 696). 1090900. [1829-00-1]. Schultz No. 280. Colour Index No. 19540. Giallo tiazolo. Disodio 2,2'-[(1-triazen-1,3-diil)di-4,1-fenilene]bis-[6-metilbenzotiazol-7-solfonato].

Polvere giallo-brunastra, molto solubile in acqua e in alcool.

Giallo titanio cartina. 1090901.

Immergere strisce di carta da filtro in *giallo titanio soluzione R* e lasciarvele per alcuni minuti. Lasciare essiccare a temperatura ambiente.

Giallo titanio soluzione. 1090902.

Soluzione 0,5 g/l.

Saggio di sensibilità. A 0,1 ml di giallo titanio soluzione aggiungere 10 ml di *acqua R*, 0,2 ml di *soluzione standard di magnesio (Mg 10 ppm) R* e 1,0 ml di *sodio idrossido 1 M*. E' visibile una netta colorazione rosa per confronto con una soluzione di riferimento preparata in una maniera simile omettendo il magnesio.

Ginsenoside Rb1. $C_{54}H_{92}O_{23} \cdot 3H_2O$. (M_r 1163). 1127500. [41753-43-9]. (20*S*)-3β-di-D-Glucopiranosil-20-di-D-glucopiranosilprotopanaxadiolo. (20*S*)-3β-[(2-*O*-β-D-Glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)ossi]-20-[(6-*O*-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)ossi]-5α-dammar-24-en-12β-olo. (20*S*)-3β-[(2-*O*-β-D-Glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)ossi]-20-[(6-*O*-β-D-glucopiranosil-β-D-glucopiranosil)ossi]-4,4,8,14-tetrametil-18-nor-5α-colest-24-en-12β-olo.

Solido incolore, solubile in acqua, in etanolo e in metanolo.

$[\alpha]_D^{20}$: + 11,3 determinato su una soluzione (10 g/l) in *metanolo R*.

p.f.: circa 199 °C.

Acqua (2.5.12). Non più del 6,8 per cento.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Ginseng* (1523).

Soluzione in esame. Disciogliere 3,0 mg, esattamente pesati, di *ginsenoside Rb1 R* in 10 ml di *metanolo R*.

Il contenuto non è inferiore al 95,0 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Ginsenoside Re. $C_{48}H_{82}O_{18}$. (M_r 947,2). 1157800. [52286-59-6]. (3β,6α,12β)-20-(β-D-glucopiranosilossi)-3,12-diidrossidammar-24-en-6-il-2-*O*-(6-deossi-α-L-mannopiranosil)-β-D-glucopiranoside.

Solido incolore, solubile in acqua, in etanolo (96 per cento) e in metanolo.

Ginsenoside Rf. $C_{42}H_{72}O_{14} \cdot 2H_2O$. (M_r 837). 1127700. [52286-58-5]. (20*S*)-6-*O*-[β-D-Glucopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranoside]-dammar-24-ene-3β,6α,12β,20-tetrolo.

Solido incolore, solubile in acqua, in etanolo e in metanolo.

$[\alpha]_D^{20}$: + 12,8 determinato su una soluzione (10 g/l) in *metanolo R*.

p.f.: circa 198 °C.

Ginsenoside Rg1. $C_{42}H_{72}O_{14} \cdot 2H_2O$. (M_r 837). 1127600. [22427-39-0]. (20*S*)-6β-D-Glucopiranosil-D-glucopiranosilprotopanaxatriolo. (20*S*)-6α,20-Bis(β-D-glucopiranosilossi)-5α-dammar-24-ene-3β,12β-diolo. (20*S*)-6α,20-Bis(β-D-glucopiranosilossi)-4,4,8,14-tetrametil-18-nor-5α-colest-24-ene-3β,12β-diolo.

Solido incolore, solubile in acqua, in etanolo e in metanolo.

$[\alpha]_D^{20}$: + 31,2 determinato su una soluzione (10 g/l) in *metanolo R*.

p.f.: da 188 °C a 191 °C.

Acqua (2.5.12). Non più del 4,8 per cento.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Ginseng* (1523).

Soluzione in esame. Disciogliere 3,0 mg, esattamente pesati, di *ginsenoside Rg1 R* in 10 ml di *metanolo R*.

Il contenuto non è inferiore al 95,0 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Gitossina. $C_{41}H_{64}O_{14}$. (M_r 781). 1040200. [4562-36-1]. Glicoside di *Digitalis purpurea* L. 3β-(*O*-2,6-Didesossi-β-D-ribo-esopiranosil-(1→4)-*O*-2,6-didesossi-β-D-ribo-esopiranosil-(14)-2,6-didesossi-β-D-ribo-esopiranosilossi)-14,16β-diidrossi-5β,14β-card-20(22)-enolide.

Polvere cristallina, bianca, praticamente insolubile in acqua e nella maggior parte dei comuni solventi organici, solubile in piridina.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 20 a + 24, determinato su una soluzione 5 g/l in una miscela di volumi uguali di *clorofor- mio R* e *metanolo R*.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Digitale foglia* (0117); il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Glicerina. Vedere la monografia *Glicerolo 85 per cento* (0497).

Glicerolo. 1040500. [56-81-5]. Vedere la monografia *Glicerolo* (0496).

Glicerolo 85 per cento. 1040600. Vedere la monografia *Glicerolo 85 per cento* (0497).

Glicidolo. C₃H₆O₂. (M_r 74,1). 1127800. [556-52-5].

Liquido leggermente viscoso, miscibile con acqua.

d_4^{20} : circa 1,115.

n_D^{20} : circa 1,432.

Glicina. 1040700. [56-40-6]. Glicocola. Vedere la monografia *Glicina* (0614).

Glicole etilenico. C₂H₆O₂. (M_r 62,1). 1036100. [107-21-1]. Etan-1,2-diolo. Etilenglicole.

Liquido leggermente viscoso, incolore, igroscopico, miscibile con acqua e con alcool, poco solubile in etere.

d_{20}^{20} : da 1,113 a 1,115.

n_D^{20} : circa 1,432.

p.e.: circa 198 °C.

p.f.: circa -12 °C.

Acidità. A 10 ml aggiungere 20 ml di *acqua R* e 1 ml di *fenolftaleina soluzione R*. Non sono necessari più di 0,15 ml di *sodio idrossido 0,02 M* per far virare la colorazione al rosa.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,2 per cento.

Glicole etilenico monoetiletere. C₄H₁₀O₂. (M_r 90,1). 1036200. [110-80-5]. Cellosolve. 2-Etossietanolo.

Liquido incolore, limpido, miscibile con acqua, con acetone, con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,93.

n_D^{20} : circa 1,406.

p.e.: circa 135 °C.

Glicole etilenico monometiletere. C₃H₈O₂. (M_r 76,1). 1036300. [109-86-4]. 2-Metossietanolo. Metossietanolo.

Liquido incolore, limpido, miscibile con acqua, con acetone, con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,97.

n_D^{20} : circa 1,403.

p.e.: circa 125 °C.

Glicole propilenico. 1072900. [57-55-6]. Vedere la monografia *Glicole propilenico* (0430).

Glicole tiodietilenico. C₄H₁₀O₂S. (M_r 122,2). 1122900. [111-48-8]. Di(2-idrossietil) solfuro.

Liquido viscoso incolore o giallo. Contiene almeno il 99,0 per cento di C₄H₁₀O₂S.

d_{20}^{20} : circa 1,18.

Gliossale sodico bisolfito. C₂H₄Na₂O₈S₂. (M_r 266,16). [517-21-5]. Sale disodico dell'acido 1, 2 - diidrossietandisolfonico.

Solubile in acqua, insolubile in alcool.

Gliossale soluzione. 1098400. [107-22-2].

Contiene circa il 40 per cento *m/m* di gliossale.

Determinazione quantitativa. In una beuta con tappo a smeriglio porre 1,000 g di gliossale soluzione, 20 ml di una soluzione (70 g/l) di *idrossilammina cloridrato R* e 50 ml di *acqua R*. Lasciare a riposo per 30 min e aggiungere 1 ml di *rosso metile indicatore misto R* e titolare con *sodio idrossido 1 M* fino al viraggio della colorazione dal rosso al verde. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 29,02 mg di gliossale (C₂H₂O₂).

Gliossalidrossianile. C₁₄H₁₂N₂O₂. (M_r 240,3). 1041000. [1149-16-2]. Gliossale bis(2-idrossianile).

Cristalli bianchi, solubili in alcool caldo.

p.f.: circa 200 °C.

Glucosammina cloridrato. C₆H₁₄ClNO₅. (M_r 215,6). 1040300. [66-84-2]. D-Glucosammina cloridrato.

Cristalli, solubili in acqua, praticamente insolubili in etere.

$[\alpha]_D^{20}$: + 100, diminuisce fino a + 47,5 dopo 30 min, determinato su una soluzione 100 g/l in *acqua R*.

Glucosio. 1025700. [50-99-7]. Vedere la monografia *Glucosio anidro* (0177).

L-γ-Glutammil-L-cisteina. C₈H₁₄N₂O₅S. (M_r 250,3). 1157900. [636-58-8].

L-Glutatione ossidato. C₂₀H₃₂N₆O₁₂S₂. (M_r 612,6). 1158000. [27025-41-8]. Bis(L - γ - Glutammil - L - cisteinilglicina)disolfuro.

Gomma adragante. 1092300. [9000-65-1]. Vedere la monografia *Gomma adragante* (0532).

Gomma arabica. 1000100. Vedere la monografia *Gomma arabica* (0307).

Gomma arabica soluzione. 1000101.

Disciogliere 100 g di *gomma arabica R* in 1000 ml di *acqua R*. Agitare con un agitatore meccanico per 2 h. Centrifugare a circa 2000 g per 30 min fino ad ottenere una soluzione limpida.

Conservare in recipienti di polietilene da circa 250 ml tra 0 °C e 20 °C.

Gomma metilsilicone. Vedere *poli(dimetil)silossano R*.

Gonadotropina corionica. 1041100. [9002-61-3]. Vedere la monografia *Gonadotropina corionica* (0498).

Gonadotropina sierica. 1041200. Vedere la monografia *Gonadotropina sierica equina per uso veterinario* (0719).

Guaiaco resina. 1041400.

Resina ottenuta dal cuore del legno di *Guaiacum officinale L.* e *Guaiacum sanctum L.*

Frammenti vetrosi duri, bruno-rossastri o bruno-verdastri; fratture lucenti.

Guaiazulene. $C_{15}H_{18}$. (M_r 198,3). 1041500. [489-84-9]. 1,4-Dimetil-7-isopropilazulene.

Cristalli blu scuri o liquido blu, molto poco solubili in acqua, miscibili con oli grassi ed essenziali e con paraffina liquida, moderatamente solubili in alcool, solubili in acido solforico (500 g/l) e in acido fosforico all'80 per cento *m/m*, dando luogo ad una soluzione incolore. p.f.: circa 30 °C.

Conservare al riparo dalla luce e dall'aria.

Guanidina cloridrato. CH_5N_3HCl . (M_r 95,5). 1098500. [50-01-1].

Polvere cristallina, molto solubile in acqua e in alcool.

Guanina. $C_5H_5N_5O$. (M_r 151,1). 1041600. [73-40-5]. 2-Ammino-1,7-diidro-6*H*-purin-6-one.

Polvere bianca, amorfa, praticamente insolubile in acqua, poco solubile in alcool. E' solubile in ammoniaca e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Ialuronidasi diluente. Vedere *diluente per ialuronidasi R*.

β-Idrastina. $C_{21}H_{21}NO_6$. (M_r 383,4). Alcaloide principale dell'*Hydrastis canadensis* L.

Prismi ortorombici, incolori; insolubile in acqua, poco solubile in alcool e in etere, molto solubile in cloroformio.

$[\alpha]_D^{20}$: - 50 determinato su una soluzione (3 g/l) in etanolo.

p.f.: circa 132 °C.

Idrazina. H_4N_2 . (M_r 32,05). 1136300. [302-01-2]. Dia-zano.

Liquido leggermente oleoso, incolore con un forte odore di ammoniaca, miscibile con acqua. In commercio sono reperibili soluzioni diluite in acqua.

Attenzione: tossica e corrosiva.

n_D^{20} : circa 1,470.

p.e.: circa 113 °C.

p.f.: circa 1,5 °C.

Idrazina solfato. $H_6N_2O_4S$. (M_r 130,1). 1043400. [10034-93-2]. Idrazinio solfato.

Cristalli incolori, moderatamente solubili in acqua fredda, solubili in acqua calda (50 °C) e molto solubili in acqua bollente, praticamente insolubili in alcool.

Arsenico (2.4.2). 1,0 g soddisfa al saggio limite A per l'arsenico (1 ppm).

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento.

Idrocarburi a bassa tensione di vapore (tipo L). 1049400.

Massa untuosa, solubile in benzene e in toluene.

Idrochinone. $C_6H_6O_2$. (M_r 110,1). 1044100. [123-31-9]. 1,4-Benzendiolo.

Aghi bianchi o incolori, fini, che imbruniscono per esposizione alla luce e all'aria, solubili in acqua, in alcool e in etere.

p.f.: circa 173 °C.

Conservare al riparo dalla luce e dall'aria.

Idrochinone soluzione. 1044101.

Disciogliere 0,5 g di *idrochinone R* in *acqua R*, aggiungere 20 µl di *acido solforico R* e diluire a 50 ml con *acqua R*.

Idrocortisone acetato. 1098800. [50-03-3]. Vedere la monografia *Idrocortisone acetato* (0334).

Idrogeno per cromatografia. H_2 . (M_r 2,016). 1043700. [1333-74-0].

Contiene non meno del 99,95 per cento *V/V* di H_2 .

Idrogeno perossido soluzione concentrata. 1043900. [7722-84-1]. Vedere la monografia *Idrogeno perossido soluzione 30 per cento* (0396).

Idrogeno perossido soluzione diluita. 1043800. [7722-84-1]. Vedere la monografia *Idrogeno perossido soluzione 3 per cento* (0395).

Idrogeno solfuro. Vedere *acido solfidrico R*.

Idrogeno solfuro soluzione. Vedere *acido solfidrico soluzione R*.

Idrogeno solfuro R1. Vedere *acido solfidrico R1*.

Idrossichinolina. C_9H_7NO . (M_r 145,2). 1044600. [148-24-3]. 8-Chinolinolo. 8-Idrossichinolina.

Polvere cristallina, bianca o leggermente giallastra, poco solubile in acqua, molto solubile in acetone, in alcool e negli acidi minerali diluiti.

p.f.: circa 75 °C.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,05 per cento.

Idrossilammina cloridrato. NH_4ClO . (M_r 69,5). 1044300. [5470-11-1]. Idrossilammonio cloruro.

Polvere cristallina, bianca, solubilissima in acqua, solubile in alcool.

Idrossilammina cloridrato soluzione R2. 1044304.

Disciogliere 2,5 g di *idrossilammina cloridrato R* in 4,5 ml di *acqua R* calda e aggiungere 40 ml di *alcool R* e 0,4 ml di *blu bromofenolo soluzione R2*. Aggiungere *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M* fino al viraggio ad una colorazione giallo-verdastro. Diluire a 50,0 ml con *alcool R*.

Idrossilammina soluzione alcalina. 1044302.

Immediatamente prima dell'uso, mescolare volumi uguali di una soluzione (139 g/l) di *idrossilammina cloridrato R* e di una soluzione (150 g/l) di *sodio idrossido R*.

Idrossilammina soluzione alcalina R1. 1044303.

Soluzione A. Disciogliere 12,5 g di *idrossilammina cloridrato R* in *metanolo R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Soluzione B. Disciogliere 12,5 g di *sodio idrossido R* in *metanolo R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Mescolare volumi uguali di soluzione A e di soluzione B immediatamente prima dell'uso.

Idrossilammina soluzione alcoolica. 1044301.

Disciogliere 3,5 g di *idrossilammina cloridrato R* in 95 ml di *alcool al 60 per cento V/V R*, aggiungere 0,5 ml di una soluzione (2 g/l) di *metilarancio R* in *alcool al 60 per cento V/V R* e *potassio idrossido 0,5 M* in *alcool al 60 per cento V/V R* in quantità sufficiente a dare una netta colorazione gialla. Diluire a 100 ml con *alcool al 60 per cento V/V R*.

Idrossimetilfurale. C₆H₆O₃. (M_r 126,1). 1044400. [67-47-0]. 5-Idrossimetilfurale.

Cristalli aghiformi, molto solubili in acqua, in acetone e in alcool.

p.f.: circa 32 °C.

2-Idrossipropilbetadex per cromatografia. 1146000.

Betaciclodestrina modificata per inserimento dei gruppi dell'ossido di propilene (R) o (RS) sui raggrupamenti ossidrilici.

Idrossipropil-β-ciclodestrina. 1128600. [94035-02-6].

Vedere la monografia *Idrossipropilbetadex* (1804).

pH (2.2.3): 5,0-7,5 (soluzione 20 g/l).

Idrossitoluene butilato. 1013800. [128-37-0]. Vedere *butilidrossitoluene R*.**5-Idrossiuracile.** C₄H₄N₂O₃. (M_r 128,1). 1044700. [496-76-4]. Acido isobarbiturico. Pirimidin-2,4,5-triolo.

Polvere cristallina, bianca.

p.f.: circa 310 °C, con decomposizione.

Cromatografia. Esaminato come prescritto nella monografia *Fluorouracile* (0611), il cromatogramma presenta una macchia principale con un R_f di circa 0,3.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Imidazolo. C₃H₄N₂. (M_r 68,1). 1045400. [288-32-4].

Polvere cristallina, bianca, solubile in acqua e in alcool.

p.f.: circa 90 °C.

Imminodibenzile. C₁₄H₁₃N. (M_r 195,3). 1045500. [494-19-9]. 10,11-Diidrodibenz[*b,f*]azepina.

Polvere cristallina, gialla pallida, praticamente insolubile in acqua, molto solubile in acetone.

p.f.: circa 106 °C.

Indolo. C₈H₇N. (M_r 117,1).

Scagliette lucide, di intenso odore fecale, gradevole in soluzione molto diluita; poco solubile in acqua calda, solubile in alcool, molto solubile in etere; volatile in corrente di vapore.

p.f.: circa 52 °C.

Indometacina. 1101500. [53-86-1]. Vedere la monografia *Indometacina* (0092).**Iodio.** 1045800. [7553-56-2]. Vedere la monografia *Iodio* (0031).**Iodio soluzione R1.** 1045801.

A 10,0 ml di *iodio 0,05 M* aggiungere 0,6 g di *potassio ioduro R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Iodio soluzione R2. 1045802.

A 10,0 ml di *iodio 0,05 M* aggiungere 0,6 g di *potassio ioduro R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Iodio soluzione R3. 1045803.

Diluire 2,0 ml di *iodio soluzione R1* a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Iodio soluzione R4. 1045806.

Disciogliere 14 g di *iodio R* in 100 ml di una soluzione (400 g/l) di *potassio ioduro R*, aggiungere 1 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Iodio soluzione alcoolica. 1045804.

Soluzione 10 g/l in *alcool R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Iodio soluzione cloroformica. 1045805.

Soluzione 5 g/l in *cloroformio R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Iodio bromuro. IBr. (M_r 206,8). 1045900. [7789-33-5].

Cristalli nero-bluastri o nero-brunastri, molto solubili in acqua, in alcool, in etere e in acido acetico glaciale.

p.e.: circa 116 °C.

p.f.: circa 40 °C.

Conservare al riparo dalla luce, in un luogo fresco.

Iodio bromuro soluzione. 1045901.

Disciogliere 20 g di *iodio bromuro R* in *acido acetico glaciale R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Conservare al riparo dalla luce.

Iodio-iodurata soluzione. Vedere *potassio ioduro e iodio soluzione R*.

Iodobismutico reattivo. Reattivo di Dragendorf. Vedere *potassio iodobismutato soluzione R*.

Iodobismutico reattivo R1. Vedere *potassio iodobismutato soluzione R1*.

Iodobismutico reattivo R2. Vedere *potassio iodobismutato soluzione R2*.

Iodobismutico reattivo diluito. Vedere *potassio iodobismutato soluzione diluita R*.

Iodoetano. C_2H_5I . (M_r 155,9). 1099100. 75-03-6.

Liquido incolore o leggermente giallo, che scurisce all'aria e alla luce, miscibile in alcool e nella maggior parte dei solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 1,95.

n_D^{20} : circa 1,513.

p.e.: circa 72 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Iodoplatinato reattivo. Vedere *iodoplatinico reattivo R*.

Iodoplatinico reattivo. 1046300. Acido iodoplatinico soluzione.

A 3 ml di una soluzione (100 g/l) di *acido cloroplatinico R* aggiungere 97 ml di *acqua R* e 100 ml di una soluzione (60 g/l) di *potassio ioduro R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Iodosolforoso reattivo. 1046400.

L'apparecchio, che deve essere mantenuto chiuso e asciutto durante la preparazione, è costituito da un recipiente a fondo tondo da 3000-4000 ml, provvisto di tubolature per un agitatore e un termometro, e di un tubo per l'essiccamento. A 700 ml di *piridina anidra R* e 700 ml di *glicole etilenico monometiletero R* aggiungere, agitando costantemente, 220 g di *iodio R* finemente polverizzato, precedentemente essiccato su *anidride fosforica R*. Continuare ad agitare fino a dissoluzione completa dello iodio (30 min circa). Raffreddare a 10 °C ed aggiungere rapidamente, continuando ad agitare, 190 g di *anidride solforosa R*. Non lasciare che la temperatura superi 30 °C. Raffreddare.

Determinazione del titolo. Porre 20 ml circa di *metanolo anidro R* in una beuta da titolazione e titolare al punto di equivalenza con lo iodosolforoso reattivo (*determinazione dell'acqua*, 2.5.12). Introdurre in modo appropriato una idonea quantità di *acqua R*, accuratamente pesata e ripetere la determinazione dell'acqua. Calcolare l'equivalente dell'acqua in milligrammi per millilitro di iodosolforoso reattivo.

L'equivalente minimo dell'acqua è 3,5 mg di acqua per millilitro di reattivo.

Lavorare al riparo dall'umidità. Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso.

Conservare in un recipiente asciutto.

5-Iodouracile. $C_4H_3IN_2O_2$. (M_r 238,0). 1046500. [696-07-1]. 5-Iodo-1*H*,3*H*-pirimidin-2,4-dione.

p.f.: circa 276 °C, con decomposizione.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Idoxuridina* (0669), deponendo 5 µl di una soluzione 0,25 g/l. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Iosciamina solfato. 1044900. [620-61-1]. Vedere la monografia *Iosciamina solfato* (0501).

Ioscina bromidrato. 1044800. [6533-68-2]. Vedere la monografia *Scopolamina bromidrato* (0106).

Ipericina. $C_{30}H_{16}O_8$. (M_r 504,4). 1149800. [548-04-9]. 1,3,4,6,8,13-Esaidrossi-10,11-dimetilfenantro[1,10,9,8-*opqra*]perilen-7,14-dione.

Contiene non meno dell'85 per cento di $C_{30}H_{16}O_8$.

Iperoside. $C_{21}H_{20}O_{12}$. (M_r 464,4). 1045000. 2-(3,4-Diidrossifenil)-3-β-D-galattopiranosilossi-5,7-diidrossicromen-4-one.

Aghi giallo pallido, solubili in metanolo.

$[\alpha]_D^{20}$: - 8,3, determinato su una soluzione 2 g/l in *piridina R*.

p.f.: circa 240 °C, con decomposizione.

Una soluzione in *metanolo R* presenta due massimi di assorbimento (2.2.25), a 259 nm e a 364 nm.

Ipofosforoso reattivo. 1045200.

Disciogliere con l'aiuto di un leggero riscaldamento, 10 g di *sodio ipofosfito R* in 20 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con *acido cloridrico R*. Lasciare depositare e decantare o filtrare su lana di vetro.

Ipoxantina. $C_5H_4N_4O$. (M_r 136,1). 1045300. [68-94-0]. 1*H*-Purin-6-one.

Polvere cristallina, bianca, molto poco solubile in acqua, moderatamente solubile in acqua bollente, solubile negli acidi diluiti e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini, si decompone senza fusione a circa 150 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Mercaptopurina* (0096); il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Isatina. $C_8H_5NO_2$. (M_r 147,1). 1046800. [91-56-5]. 2,3-Indolindione.

Cristalli rosso-giallastri, piccoli, poco solubili in acqua, solubili in acqua calda, in alcool e in etere, solubili nelle soluzioni di idrossidi alcalini dando una colorazione violetta che diventa gialla lasciando a riposo.

p.f.: circa 200 °C, con parziale sublimazione.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,2 per cento.

Isatina reattivo. 1046801.

Disciogliere 6 mg di *ferro(-ico) solfato R* in 8 ml di *acqua R* e aggiungere cautamente 50 ml di *acido solforico R*. Aggiungere 6 mg di *isatina R* e agitare fino a dissoluzione.

Il reattivo deve essere giallo pallido, e comunque non arancione o rosso.

Isoandrosterone. C₁₉H₃₀O₂. (M_r 290,4). 1107100. [481-29-8]. Epiandrosterone. 3β-Idrossi-5α-androstan-17-one.

Polvere bianca, praticamente insolubile in acqua, solubile in solventi organici.

[α]_D²⁰: + 88, determinato su una soluzione (20 g/l) in *metanolo R*.

p.f.: da 172 °C a 174 °C.

ΔA (2.2.41): 14,24 × 10³, determinato a 304 nm su una soluzione 1,25 g/l.

Isobutilmetilchetone. C₆H₁₂O. (M_r 100,2). 1054300. [108-10-1]. 4-Metil-2-pentanone. Isopropilacetone. Metilisobutilchetone.

Liquido incolore, limpido, poco solubile in acqua, miscibile con la maggior parte dei solventi organici.

d₂₀²⁰: circa 0,80.

p.e.: circa 115 °C.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Distillare 100 ml. L'intervallo della temperatura di distillazione da 1 ml a 95 ml di distillato non è superiore a 4,0 °C.

Residuo all'evaporazione. Non superiore allo 0,01 per cento, determinato per evaporazione a b.m. ed essiccaamento a 100-105 °C.

Isobutilmetilchetone R1. 1054301.

Agitare 50 ml di *isobutilmetilchetone R* distillato di recente con 0,5 ml di *acido cloridrico R1* per 1 min. Lasciare separare le fasi e scartare la fase inferiore. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Isodrin. C₁₂H₈Cl₆. (M_r 364,9). 1128700. [465-73-6]. 1,2,3,4,10,10-Esacloro-1,4,4a,5,8,8a-esaidro-endo,endo-1,4:5,8-dimetanonafalene.

Praticamente insolubile in acqua, solubile nei comuni solventi organici come l'acetone.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento.

Isomentolo. C₁₀H₂₀O. (M_r 156,3). 1047000. [23283-97-8]. (+)-*Isomentolo*: (1*S*,2*R*,5*R*)-2-Isopropil-5-metilcicloesano. (±)-*Isomentolo*: Miscela di parti uguali di (1*S*,2*R*,5*R*)- e (1*R*,2*S*,5*S*)-2-Isopropil-5-metilcicloesano.

Cristalli incolori, praticamente insolubili in acqua, solubilissimi in alcool e in etere.

[α]_D²⁰: (+)-*Isomentolo*: circa + 24, determinato su una soluzione 100 g/l in *alcool R*.

p.e.: (+)-*Isomentolo*: circa 218 °C. (±)-*Isomentolo*: circa 218 °C.

p.f.: (+)-*Isomentolo*: circa 80 °C. (±)-*Isomentolo*: circa 53 °C.

(+)-Isomentone. C₁₀H₁₈O. (M_r 154,2). 1047100. (1*R*)-*cis-p*-Mentan-3-one. (1*R*)-*cis*-2-Isopropil-5-metilcicloesano.

Contiene quantità variabili di mentone.

Liquido incolore, molto poco solubile in acqua, solubile in alcool e in etere.

d₂₀²⁰: circa 0,904.

n_D²⁰: circa 1,453.

[α]_D²⁰: circa + 93,2.

L'isomentone utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza (0405)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore all'80,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Isopropanolo. Vedere *2-propanolo R*.

Isopropilammina. C₃H₉N. (M_r 59,1). 1119800. [75-31-0]. 2-Propanammina.

Liquido incolore, altamente volatile, infiammabile.

n_D²⁰: circa 1,374.

p.e.: da 32 °C a 34 °C.

Isopropile miristato. 1047200. [110-27-0]. Vedere la monografia *Isopropile miristato (0725)*.

4-Isopropilfenolo. C₉H₁₂O. (M_r 136,2). 1047300. [99-89-8].

Contiene non meno del 98 per cento di C₉H₁₂O.

p.e.: circa 212 °C.

p.f.: da 59 °C a 61 °C.

Isopulegolo. C₁₀H₁₈O. (M_r 154,2). 1139600. [89-79-2]. (-)-*Isopulegolo*. (1*R*,2*S*,5*R*)-2-Isopropenil-5-metilcicloesano.

d₄²⁰: circa 0,911.

n_D²⁰: circa 1,472.

p.e.: circa 91 °C.

L'isopulegolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza, parzialmente dementolizzata (1838)*.

Il contenuto non è inferiore al 99 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Isoquercitroside. $C_{21}H_{20}O_{12}$. (M_r 464,4). 1136500. [21637-25-2]. Isoquercitrina. 2-(3,4-Diidrofenil)-3-(β -D-glucofuranosilossi)-5,7-didrossi-4H-1-benzopirano-4-one. 3,3',4',5,7-Pentaidrossiflavone-3-glucoside.

Isosilibinina. $C_{25}H_{22}O_{10}$. (M_r 482,4). 1149900. [72581-71-6]. 3,5,7-Triidrossi-2-[2-(4-idrossi-3-metossifenil)-3-idrossimetil-2,3-diidro-1,4-benzodiossin-6-il]croman-4-one.

Polvere da bianca a gialla, praticamente insolubile in acqua, solubile in acetone e in metanolo.

Istamina dicloridrato. 1042800. [56-92-8]. Vedere la monografia *Istamina dicloridrato (0143)*.

Istamina fosfato. 1042900. [23297-93-0]. Istamina fosfato acido. Vedere la monografia *Istamina fosfato (0144)*.

Istamina soluzione. 1042901.

Soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* contenente 0,1 μ g per millilitro di istamina base (sotto forma di fosfato o dicloridrato).

L-Istidina. Vedere la monografia *Istidina (0911)*.

Istidina monocloridrato. $C_6H_{10}ClN_3O_2 \cdot H_2O$. (M_r 209,6). 1043000. [123333-71-1]. Acido (*RS*)-2-ammino-3-(imidazol-4-il)propionico cloridrato monoidrato.

Cristalli incolori o polvere cristallina, solubili in acqua. p.f.: circa 250 °C, con decomposizione.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Istamina dicloridrato (0143)*; il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Kieselguhr G. 1047600.

E' costituito da kieselguhr trattato con acido cloridrico e calcinato, al quale si aggiunge il 15 per cento circa di calcio solfato emiidrato.

Polvere fine bianca-grigiastra; la colorazione grigia diventa più pronunciata tritutando con acqua. La dimensione particellare media è compresa tra 10 μ m e 40 μ m.

Contenuto di calcio solfato. Determinare mediante il metodo prescritto per il *gel di silice G R*.

pH (2.2.3). Agitare 1 g con 10 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* per 5 min. Il pH della sospensione è compreso tra 7 e 8.

Separazione cromatografica. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27). Preparare le lastre usando un impasto di kieselguhr G con una soluzione (2,7 g/l) di *sodio acetato R*. Deposare 5 μ l di una soluzione contenente 0,1 g/l rispettivamente di lattosio, saccarosio, glucosio e fruttosio in *piridina R*. Eluire per un percorso di 14 cm usando una miscela di 12 volumi di *acqua R*, 23 volumi di *2-propanolo R* e 65 volumi di *etile*

acetato R. Il tempo di migrazione del solvente è di 40 min circa. Essiccare, spruzzare sulla lastra 10 ml circa di *aldeide anisica soluzione R* e scaldare per 5-10 min a 100-105 °C. Il cromatogramma presenta quattro macchie ben definite senza code e ben separate l'una dall'altra.

Kieselguhr per cromatografia. 1047500.

Polvere fine, bianca o bianco-giallastra, praticamente insolubile in acqua, negli acidi diluiti e nei solventi organici.

Velocità di filtrazione. Usare un colonna cromatografica lunga 0,25 m con diametro interno di 10 mm e una lastra di vetro sinterizzato (100) sulla quale vi siano due marcature a 0,10 m e a 0,20 m. Porre in colonna una quantità di sostanza in esame sufficiente a raggiungere la prima marcatura e riempire fino alla seconda marcatura con *acqua R*. Quando le prime gocce iniziano a fluire dalla colonna, riempire nuovamente fino alla seconda marcatura con *acqua R* e misurare il tempo necessario affinché i primi 5 ml fluiscano attraverso la colonna. La velocità di scorrimento non è inferiore ad 1 ml per minuto.

Aspetto dell'eluato. L'eluato ottenuto nel saggio per la velocità di filtrazione è incolore (*Metodo I, 2.2.2*).

Acidità o alcalinità. A 1,00 g aggiungere 10 ml di *acqua R*, agitare vigorosamente e lasciare a riposo per 5 min. Filtrare la sospensione su un filtro precedentemente lavato con *acqua R* calda fino a che i lavaggi siano neutri. A 2,0 ml del filtrato aggiungere 0,05 ml di *rosso metile soluzione R*; la soluzione è gialla. A 2,0 ml del filtrato aggiungere 0,05 ml di *fenolfaleina soluzione R1*; la soluzione è al massimo leggermente rosata.

Sostanze solubili in acqua. Porre 10,0 g in una colonna cromatografica lunga 0,25 m e con diametro interno di 10 mm e eluire con *acqua R*. Raccogliere i primi 20 ml dell'eluato, evaporare a secco e essiccare il residuo a 100-105 °C. Il residuo pesa non più di 10 mg.

Ferro (2.4.9). A 0,50 g aggiungere 10 ml di una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico R1* e *acqua R*, agitare vigorosamente, lasciare a riposo per 5 min e filtrare. 1,0 ml del filtrato soddisfa al saggio limite per il ferro (200 ppm).

Perdita alla calcinazione. Non superiore allo 0,5 per cento. Durante il riscaldamento al rosso (600 °C) la sostanza non imbrunisce né annerisce.

Lantanio cloruro soluzione. 1114001.

A 58,65 g di *lantanio triossido R* aggiungere lentamente 100 ml di *acido cloridrico R*. Scaldare a ebollizione. Lasciar raffreddare e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Lantano nitrato. $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. (M_r 433,0). 1048000. [10277-43-7]. Lantano trinitrato esaidrato.

Cristalli incolori, deliquescenti, molto solubili in acqua. Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Lantano nitrato soluzione. 1048001.

Soluzione 50 g/l.

Lantano triossido. La_2O_3 . (M_r 325,8). 1114000. [1312-81-8].

Polvere amorfa quasi bianca, praticamente insolubile in acqua R. Si scioglie nelle soluzioni diluite di acidi minerali e assorbe anidride carbonica atmosferica.

Calcio. Non più di 5 ppm.

Lastra di gel di silice per cromatografia su strato sottile. 1116700.

Supporto di vetro, di metallo o di plastica, ricoperto con uno strato di gel di silice di spessore e dimensione delle particelle adatti (generalmente da 2 μm a 10 μm per lastre con dimensione fine delle particelle (Cromatografia su strato sottile ad alta risoluzione, HPTLC) e da 5 μm a 40 μm per lastre normali per cromatografia su strato sottile). Se necessario, la dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è usata.

La lastra può contenere un legante organico.

Separazione cromatografica. Deporre sulla lastra un appropriato volume (10 μl per una lastra normale per cromatografia su strato sottile e da 1 μl a 2 μl per una lastra con dimensione fine delle particelle) di soluzione per il saggio di risoluzione della cromatografia su strato sottile R. Eluire per un percorso pari a due terzi dell'altezza della lastra, usando una miscela di 20 volumi di metanolo R e 80 volumi di toluene R. La lastra è soddisfacente se il cromatogramma presenta quattro macchie nettamente separate, la macchia del verde bromocresolo con un R_f minore di 0,15, la macchia del metilarancio con un R_f che rientra nell'intervallo tra 0,1 e 0,25, la macchia del rosso metile con un R_f che rientra nell'intervallo tra 0,35 e 0,55 e la macchia del rosso Sudan G con un R_f che rientra nell'intervallo tra 0,75 e 0,98.

Lastra di gel di silice F₂₅₄ per cromatografia su strato sottile. 1116800.

Soddisfa ai requisiti definiti per la lastra di gel di silice per cromatografia su strato sottile R con le seguenti modifiche:

Contiene un indicatore di fluorescenza avente un'assorbanza massima a 254 nm.

Attenuazione della fluorescenza. Deporre separatamente sulla lastra, in cinque punti, aumentando i volumi (da 1 μl a 10 μl per lastre normali per cromatografia su strato sottile e da 0,2 μl a 2 μl per lastre con dimensione

fine delle particelle) di una soluzione (1 g/l) di acido benzoico R in una miscela di 15 volumi di etanolo R e 85 volumi di cicloesano R. Eluire per un percorso pari a metà dell'altezza della lastra con la stessa miscela di solventi. Dopo l'evaporazione dei solventi esaminare il cromatogramma alla luce ultravioletta a 254 nm. Per le lastre normali per cromatografia su strato sottile l'acido benzoico appare come macchie scure su uno sfondo fluorescente approssimativamente nel centro del cromatogramma per quantità uguali o superiori a 2 μg . Per lastra con dimensione fine delle particelle l'acido benzoico appare come macchie scure su uno sfondo fluorescente approssimativamente nel centro del cromatogramma per quantità uguali o superiori a 0,2 μg .

Lastra di gel di silice F₂₅₄ silanizzato per cromatografia su strato sottile. 1117200.

Soddisfa ai requisiti prescritti per lastra di gel di silice silanizzato per cromatografia su strato sottile R con la seguente modifica:

Contiene un indicatore di fluorescenza avente un'assorbanza massima a 254 nm.

Lastra di gel di silice G per cromatografia su strato sottile. 1116900.

Soddisfa ai requisiti prescritti per la lastra di gel di silice per cromatografia su strato sottile R con le seguenti modifiche:

Contiene calcio solfato emiidrato come legante.

Lastra di gel di silice GF₂₅₄ per cromatografia su strato sottile. 1117000.

Soddisfa ai requisiti prescritti per la lastra di gel di silice per cromatografia su strato sottile R con le seguenti modifiche:

Contiene calcio solfato emiidrato come legante e un indicatore fluorescente avente un'assorbanza massima a 254 nm.

Attenuazione della fluorescenza. Soddisfa al saggio prescritto per la lastra di gel di silice F₂₅₄ per cromatografia su strato sottile R.

Lastra di gel di silice ottadecilsililato F₂₅₄ per cromatografia su strato sottile. 1146600.

Supporto di vetro, di metallo o di plastica ricoperto con uno strato di gel di silice ottadecilsililato.

Contiene un indicatore di fluorescenza avente un'assorbanza massima nell'ultravioletto a 254 nm.

Lastra di gel di silice ottadecilsililato per separazioni chirali per cromatografia su strato sottile. 1137700.

Supporto di vetro, metallo o plastica, ricoperto con uno strato di gel di silice ottadecilsililato impregnato con ioni Cu^{2+} ed idrossiprolina enantiomericamente pura. La lastra può contenere un legame organico.

Lastra di gel di silice silanizzato per cromatografia su strato sottile. 1117100.

Supporto di vetro, metallo o plastica, ricoperto con uno strato di gel di silice silanizzato di spessore e dimensione delle particelle adatti (generalmente da 2 µm a 10 µm per lastre con dimensione fine delle particelle (Cromatografia su strato sottile ad alta risoluzione, HPTLC) e da 5 µm a 40 µm per lastre normali per cromatografia su strato sottile). Se necessario, la dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nel saggio dove è usata.

La lastra può contenere un legante organico.

Separazione cromatografica. Introdurre 0,1 g ciascuno di *metile laurato R*, *metile miristato R*, *metile palmitato R* e *metile stearato R* in un pallone di 250 ml. Aggiungere 40 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica R* e scaldare sotto un condensatore a riflusso a b.m. per 1 h. Lasciar raffreddare, trasferire la soluzione in un imbuto separatore mediante 100 ml di *acqua R*, acidificare (da pH 2 a 3) con *acido cloridrico diluito R* e agitare con tre porzioni da 10 ml ciascuna di *diclorometano R*. Essiccare gli estratti riuniti di diclorometano su *sodio solfato anidro R*, filtrare ed evaporare a secco su un b.m. Disciogliere il residuo in 50 ml di *diclorometano R*. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *lastra di gel di silice silanizzato per cromatografia su strato sottile R*. Deporre un'adeguata quantità (circa 10 µl per lastre normali per cromatografia su strato sottile e 1 µl a 2 µl per lastre con dimensione fine delle particelle) della soluzione di diclorometano in ciascuno di tre punti separati. Eluire per un percorso pari a due terzi dell'altezza della lastra con una miscela di 10 volumi di *acido acetico glaciale R*, 25 volumi di *acqua R* e 65 volumi di *diossano R*. Essiccare la lastra a 120 °C per 30 min. Lasciar raffreddare, spruzzare con una soluzione (35 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *2-propanolo R* e scaldare a 150 °C fino a che le macchie diventano visibili. Trattare la lastra con vapori di ammoniaca fino a che lo sfondo diventa bianco. Il cromatogramma mostra quattro macchie nettamente separate e ben definite.

Lastra di gel di silice F₂₅₄ silanizzato per cromatografia su strato sottile. 1117200.

Soddisfa ai requisiti prescritti per la *lastra di gel di silice silanizzato per cromatografia su strato sottile R* con le seguenti modifiche:

Contiene un indicatore di fluorescenza avente un'assorbanza massima a 254 nm.

Lattico reattivo. 1047801.

Soluzione A. A 60 ml di *acido lattico R* aggiungere 45 ml di *acido lattico R* previamente filtrato saturato senza riscaldamento con *rosso Sudan G R*; è sempre necessario un eccesso di colorante poiché l'acido lattico satura lentamente senza riscaldamento.

Soluzione B. Preparare 10 ml di una soluzione satura di *anilina R*. Filtrare.

Soluzione C. Disciogliere 75 mg di *potassio ioduro R* in *acqua R* e diluire a 70 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 10 ml di *alcool R* e 0,1 g di *iodio R*. Agitare.

Mescolare le soluzioni A e B. Aggiungere la soluzione C.

Lattosio. 1047900. [5989-81-1]. Vedere la monografia *Lattosio (0187)*.

β-Lattosio. C₁₂H₂₂O₁₁. (M_r 342,3). 1150100. [5965-66-2]. β-D-Lattosio.

Polvere bianca o leggermente giallastra.

Il contenuto di α-D-lattosio non è maggiore del 35 per cento.

Determinazione quantitativa. Gas cromatografia (2.2.28): utilizzare la procedura di normalizzazione.

Iniettare un appropriato campione derivatizzato.

Colonna:

- *dimensioni:* l = 30 m, Ø = 0,25 mm,

- *fase stazionaria:* poli[(cianopropil)(fenil)][dimetil]silossano R (spessore del film 1 µm).

Gas di trasporto: elio per cromatografia R.

Temperatura:

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
colonna	0-32,5	20 → 280
camera di iniezione		250
rivelatore		250

Rivelatore: ionizzazione di fiamma.

L'area del picco dovuto al β-lattosio non è inferiore al 99 per cento dell'area totale dei picchi.

α-Lattosio monoidrato. C₁₂H₂₂O₁₁. H₂O. (M_r 360,3). 1150000. [5989-81-1] α-D-Lattosio monoidrato.

Polvere bianca o quasi bianca.

Il contenuto di β-D-lattosio è inferiore al 3 per cento.

Determinazione quantitativa. Gas cromatografia (2.2.28): utilizzare la procedura di normalizzazione.

Iniettare un appropriato campione derivatizzato.

Colonna:

- *dimensioni:* l = 30 m, Ø = 0,25 mm,

- *fase stazionaria:* poli(dimetil)silossano R (spessore del film 1 µm).

Gas di trasporto: elio per cromatografia R.

Temperatura:

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
colonna	0-12,5	230 → 280
camera di iniezione		250
rivelatore		280

Rivelatore: ionizzazione di fiamma.

L'area del picco dovuto all' α -lattosio non è inferiore al 97 per cento dell'area totale dei picchi.

Lavandulile acetato. $C_{12}H_{20}O_2$. (M_r 196,3). 1114200. [50373-59-6]. 2-Isopropenil-5-metil-4-esen-1-ile acetato.

Liquido incolore con un odore caratteristico.

d_{20}^{20} : circa 0,911.

n_D^{20} : circa 1,454.

p.e.₁₃: da 106 °C a 107 °C.

Il lavandulile acetato utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Lavanda essenza* (1338).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 93,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto.

Lavandulolo. $C_{10}H_{18}O$. (M_r 154,2). 1114100. [498-16-8]. (*R*)-5-metil-2-(1-metiletenil)-4-esen-1-olo.

Liquido oleoso con un odore caratteristico.

d_{20}^{20} : circa 0,875.

n_D^{20} : circa 1,407.

$[\alpha]_D^{20}$: circa - 10,2.

p.e.₁₃: circa 94 °C.

Il lavandulolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Lavanda essenza* (1338).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto.

Legna nichel-alluminio. 1058100. Lega di Raney.

Contiene dal 48 per cento al 52 per cento di alluminio (Al, A_r 26,98) e dal 48 per cento al 52 per cento di nichel (Ni, A_r 58,70).

Prima dell'uso, ridurre a polvere fine (180).

E' praticamente insolubile in acqua e solubile negli acidi minerali.

Legna nichel-alluminio (esente da alogeno). 1118100.

Contiene dal 48 per cento al 52 per cento di alluminio (Al, A_r 26,98) e dal 48 per cento al 52 per cento di nichel (Ni, A_r 58,71).

Polvere grigia fine, praticamente insolubile in acqua, solubile in acidi minerali con formazione di sali.

Cloruri. Non più di 10 ppm. Disciogliere 2,00 g in 40 ml di *acido nitrico R*. Evaporare la soluzione quasi fino a

secchezza, disciogliere il residuo in *acqua R* e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente. Ad una aliquota pari a metà della soluzione, aggiungere 1,0 ml di *argento nitrato 0,1 M*. Filtrare dopo 15 min e aggiungere al filtrato 0,25 ml di sodio cloruro soluzione (contenente 40 μ g di cloruri per millilitro). Dopo 5 min la soluzione è più opalescente di una miscela, ottenuta con l'altra metà della soluzione e 1,0 ml di *argento nitrato 0,1 M*.

Leiocarposide. $C_{27}H_{34}O_{16}$. (M_r 614,5). 1150200. [71953-77-0]. 2-(β -D-Glucopiranosilossi)benzil-3-(β -D-glucopiranosilossi)-6-idrossi-2-metossibenzoato.

2-[[[3-(β -D-Glucopiranosilossi)-6-idrossi-2-metossibenzoil]ossi]metil]fenil- β -D-glucopiranoside.

Polvere bianca, solubile in acqua, molto solubile in metanolo, poco solubile in alcool.

p.f.: tra 190 °C e 193 °C.

Leucina. 1048500. [61-90-5]. Vedere la monografia *Leucina* (0771).

Levomenolo. $C_{15}H_{26}O$. (M_r 222,4). 1128800. [23089-26-1]. (-)-(2*S*)-6-Metil-2-[(1*S*)-4-metilcicloesen-3-enil]-5-epten-2-olo. (-)- α -Bisabololo.

Liquido viscoso incolore con un leggero odore caratteristico; praticamente insolubile in acqua, molto solubile in alcool, in metanolo, in toluene, in oli grassi e in oli essenziali.

d_{20}^{20} : da 0,925 a 0,935.

n_D^{20} : da 1,492 a 1,500.

$[\alpha]_D^{20}$: da - 54,5 a - 58,0, determinato su una soluzione 50 mg/ml in *alcool R*.

Il levomenolo usato per gas cromatografia soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare per gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Camomilla essenza* (1836), utilizzando una soluzione 4 g/l in *cicloesano R*.

Il contenuto di levomenolo non è inferiore al 95,0 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Limone essenza. 1101700. Vedere la monografia *Limone essenza* (0620).

Limonene. $C_{10}H_{16}$. (M_r 136,2). 1048600. [5989-27-5]. D-Limonene. (+)-*p*-Menta-1,8-diene. (*R*)-4-Isopropenil-1-metilcicloes-1-ene.

Liquido incolore, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,84.

n_D^{20} : da 1,471 a 1,474.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 96 a + 106.

p.e.: da 175 °C a 177 °C.

Il limonene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza (0405)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Linalile acetato. $C_{12}H_{20}O_2$. (M_r 196,3). 1107200. [115-95-7]. (RS)-1,5-Dimetil-1-vinile-4-enil acetato.

Liquido incolore o leggermente giallo con un forte odore di bergamotto e di lavanda.

d_{25}^{25} : da 0,895 a 0,912.

n_D^{20} : da 1,448 a 1,451.

p.e.: circa 215 °C.

Il linalile acetato utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza (1175)*, usando la sostanza in esame come soluzione in esame. L'area del picco principale non è inferiore al 95,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Linalolo. $C_{10}H_{18}O$. (M_r 154,2). 1048700. [78-70-6]. (RS)-3,7-Dimetilotta-1,6-dien-3-olo.

Miscela di due stereoisomeri (licareolo e coriandrolo).

Liquido, praticamente insolubile in acqua, solubile in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,860.

n_D^{20} : circa 1,462.

p.e.: circa 200 °C.

Il linalolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Anice essenza (0804)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Lindano. $C_6H_6Cl_6$. (M_r 290,8). 1128900. [58-89-9]. γ -Esaclorocicloesano. Vedere la monografia *Lindano (0772)*.

Per la monografia *Lanolina (0134)*, può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in cicloesano).

Litio. Li. (A_r 6,94). 1048800. [7439-93-2].

Metallo morbido la cui superficie tagliata di recente è grigio-argentea. Annerisce rapidamente a contatto con l'aria. Reagisce violentemente con acqua, liberando idrogeno e dando luogo a una soluzione di litio idros-

sido; solubile in metanolo, libera idrogeno e dà luogo a una soluzione di litio metossido; praticamente insolubile in etere e in etere di petrolio.

Conservare in etere di petrolio o in paraffina liquida.

Litio carbonato. Li_2CO_3 . (M_r 73,9). 1048900. [554-13-2]. Dilitio carbonato.

Polvere impalpabile, bianca, moderatamente solubile in acqua, molto poco solubile in alcool. Una soluzione satura a 20 °C contiene circa 13 g/l di Li_2CO_3 .

Litio cloruro. $LiCl$. (M_r 42,39). 1049000. [7447-41-8].

Polvere cristallina o granuli o cristalli cubici, deliquescenti, molto solubili in acqua, solubili in acetone e in alcool. Le soluzioni acquose sono neutre o leggermente alcaline.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Litio idrossido. $LiOH \cdot H_2O$. (M_r 41,96). 1049100. [1310-66-3]. Litio idrossido monoidrato.

Polvere granulata, bianca, fortemente alcalina, assorbe rapidamente acqua e anidride carbonica, solubile in acqua, moderatamente solubile in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Litio metaborato anidro. $LiBO_2$. (M_r 49,75). 1120000. [13453-69-5].

Litio solfato. $Li_2SO_4 \cdot H_2O$. (M_r 128,0). 1049200. [10102-25-7]. Dilitio solfato monoidrato.

Cristalli incolori, molto solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Loganina. $C_{17}H_{26}O_{10}$. (M_r 390,4). 1136700. [18524-94-2]. Metil (1S,4aS,6S,7R,7aS)-1-(β -D-glucopiranosilossi)-6-idrossi-7-metil-1,4a,5,6,7a-esaidrociclopenta[c]piran-4-carbossilato.

p.f.: da 220 °C a 221 °C.

Longifolene. $C_{15}H_{24}$. (M_r 204,4). 1150300. [475-20-7]. (1S,3aR,4S,8aS)-4,8,8-Trimetil-9-metilendecaidro-1,4-metanazulene.

Liquido oleoso incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_4^{18} : 0,9319.

n_D^{20} : 1,5050.

$[\alpha]_D^{20}$: +42,7.

p.e.: tra 254 °C e 256 °C.

Il longifolene usato in gas cromatografia soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Trementina essenza, tipo Pinus pinaster (1627)*.

Il contenuto non è inferiore al 98,0 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Luteololo-7-glucoside. $C_{21}H_{20}O_{11}$. (M_r 448). Cinaroside. 2-(3,4-Diidrossifenil)-7-[(β -D-glucopiranosil)ossi]-5-idrossi-4H-cromen-4-one.

Polvere gialla, poco solubile in etanolo e in metanolo. p.f.: circa 253 °C.

Assorbanza (2.2.25). Una soluzione (0,04 g/l) in *metanolo R* presenta due massimi di assorbimento (2.2.25) rispettivamente a 255 e a 352 nm.

Macrogol 200. 1099200. [25322-68-3]. Polietilenglicole 200.

Liquido viscoso incolore o quasi incolore, limpido, solubilissimo in acetone e in etanolo, praticamente insolubile in etere e negli oli grassi.

d_{20}^{20} : circa 1,127.

n_D^{20} : circa 1,450.

Macrogol 200 R1. 1099201.

Introdurre 500 ml di *macrogol 200 R* in un pallone a fondo tondo da 1000 ml. Usando un evaporatore rotante rimuovere gli eventuali componenti volatili mantenendo per 6 h una temperatura di 60 °C, e sotto vuoto ad una pressione di 1,5-2,5 kPa.

Macrogol 300. 1067100. [25322-68-3]. Polietilenglicole 300. Vedere la monografia *Macrogoli* (1444).

Macrogol 400. 1067200. [25322-68-3]. Polietilenglicole 400. Vedere la monografia *Macrogoli* (1444).

Macrogol 1000. 1067300. [25322-68-3]. Polietilenglicole 1000. Vedere la monografia *Macrogoli* (1444).

Macrogol 1500. 1067400. [25322-68-3]. Polietilenglicole 1500. Vedere la monografia *Macrogoli* (1444).

Macrogol 20000. 1067600. Polietilenglicole 20000. Vedere la monografia *Macrogoli* (1444).

Macrogol 20000 2-nitrotereftalato. 1067601. Polietilenglicole 20000 2-nitrotereftalato.

Macrogol 20000 R modificato mediante trattamento con acido 2-nitrotereftalato.

Solido ceroso, bianco o quasi bianco, duro, solubile in acetone.

Macrogol 23 laurile etere. 1129000.

Soddisfa alla monografia *Macrogol laurile etere* (1124), poiché il valore nominale della quantità di ossido di etilene che ha reagito con l'alcool laurilico è 23.

Magnesio. Mg. (A_r 24,30). 1049500. [7439-95-4].

Nastro bianco-argento, volute o fili, o polvere grigia.

Magnesio acetato. $C_4H_6MgO_4 \cdot 4H_2O$. (M_r 214,5). 1049600. [16674-78-5]. Magnesio diacetato tetraidrato. Cristalli incolori, deliquescenti, molto solubili in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Magnesio cloruro. 1049700. [7791-18-6]. Vedere la monografia *Magnesio cloruro esaidrato* (0402).

Magnesio nitrato. $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$. (M_r 256,4). 1049800. [13446-18-9]. Magnesio nitrato esaidrato.

Cristalli trasparenti, incolori, deliquescenti, solubilissimi in acqua, molto solubili in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Magnesio nitrato soluzione. 1049801.

Disciogliere 17,3 g di *magnesio nitrato R* in 5 ml di *acqua R* riscaldando gradualmente e aggiungere 80 ml di *alcool R*. Raffreddare e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Magnesio ossido. 1049900. [1309-48-4]. Vedere la monografia *Magnesio ossido leggero* (0040).

Magnesio ossido R1. 1049901.

Soddisfa ai requisiti prescritti per il *magnesio ossido R* con le modifiche seguenti:

Arsenico (2.4.2). Disciogliere 0,5 g in una miscela di 5 ml di *acqua R* e 5 ml di *acido cloridrico R1*. La soluzione soddisfa al saggio limite A per l'arsenico (2 ppm).

Metallipesanti (2.4.8). Disciogliere 1,0 g in una miscela di 3 ml di *acqua R* e 7 ml di *acido cloridrico R1*. Aggiungere 0,05 ml di *fenoltaleina soluzione R* e *ammoniaca concentrata R* fino al viraggio colorazione rosa. Neutralizzare l'eccesso di ammoniaca per aggiunta di *acido acetico glaciale R*. Aggiungere un eccesso di 0,5 ml dello stesso acido e diluire a 20 ml con *acqua R*. Filtrare, se necessario. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (10 ppm). Preparare la soluzione di riferimento usando una miscela di 5 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R* e 5 ml di *acqua R*.

Ferro (2.4.9). Disciogliere 0,2 g in 6 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 10 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per il ferro (50 ppm).

Magnesio ossido pesante. 1050000. [1309-48-4]. Vedere la monografia *Magnesio ossido pesante* (0041).

Magnesio silicato per l'analisi di residui di pesticidi. 1129100. [1343-88-0].

Magnesio silicato per cromatografia (60-100 mesh).

Magnesio solfato. 1050200. [10034-99-8]. Vedere la monografia *Magnesio solfato eptaidrato* (0044).

Malation. $C_{10}H_{19}O_6PS_2$. (M_r 330,3). 1129200. [121-75-5]. p.e.: circa 156 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/ μ l in iso-ottano).

Maltitolo. 1136800. [585-88-6]. Vedere la monografia *Maltitolo* (1235).

Manganese argento cartina. 1078200.

Immergere strisce di carta da filtro lenta in una soluzione contenente 8,5 g/l di *manganese solfato R* e 8,5 g/l di *argento nitrato R*. Mantenerle per alcuni minuti e lasciar seccare su *anidride fosforica R* al riparo da vapori acidi e alcalini.

Manganese solfato. $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. (M_r 169,0). 1050900. [10034-96-5]. Manganese solfato monoidrato.

Polvere cristallina o cristalli rosa pallido, molto solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Perdita alla calcinazione. Dal 10,0 per cento al 12,0 per cento, determinata su 1,000 g a 500 °C.

Mannitolo. 1051000. [69-65-8]. Vedere la monografia *Mannitolo (0559)*.

Mannosio. $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$. (M_r 180,2). 1051100. [3458-28-4]. D-(+)-Mannosio.

Polvere cristallina bianca o cristalli bianchi, piccoli, solubilissimi in acqua, poco solubili in etanolo.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 13,7 a + 14,7, determinato su una soluzione 200 g/l in *acqua R* contenente circa lo 0,05 per cento di NH_3 .

p.f.: circa 132 °C, con decomposizione.

Marrubina. $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$. (M_r 332,4). 1158300. [465-92-9]. (2a*S*,5a*S*,6*R*,7*R*,8a*R*,8b*R*)-6-[2-(Furan-3-il)etil]-6-idrossi-2a,5a,7-trimetildecadidro-2*H*-nafto[1,8-*bc*]furan-2-one.

Polvere microcristallina incolore.

La marrubina usata in cromatografia liquida soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Marrubio bianco (parti aeree fiorite) (1835)*.

Contenuto: non inferiore al 95,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Meclozina cloridrato. 1051200. [1104-22-9]. Vedere la monografia *Meclozina cloridrato (0622)*.

Melammina. $\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_6$. (M_r 126,1). 1051300. [108-78-1]. 1,3,5-Triazin-2,4,6-triammina.

Polvere amorfa, bianca, molto poco solubile in acqua e in alcool.

Menadione. 1051400. [58-27-5]. Vedere la monografia *Menadione (0507)*.

Mentile acetato. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_2$. (M_r 198,3). 1051800. [16409-45-3]. 2-Isopropil-5-metilcicloesile acetato.

Liquido incolore, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,92.

n_D^{20} : circa 1,447.

p.e.: circa 225 °C.

Il mentile acetato utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza (0405)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Mentofurano. $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$. (M_r 150,2). 1051500. [17957-94-7]. 3,9-Epossi-*p*-menta-3,8-diene. 3,6-Dimetil-4,5,6,7-tetra-idrobenzofurano.

Liquido leggermente bluastrò, molto poco solubile in acqua, solubile in alcool.

d_{15}^{20} : circa 0,965.

n_D^{20} : circa 1,480.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 93.

p.e.: circa 196 °C.

Il mentofurano utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza (0405)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 97,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Mentolo. 1051600. [2216-51-5]. Vedere le monografie *Levomentolo (0619)* e *Mentolo racemico (0623)*.

Il mentolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nel saggio "Sostanze correlate" della monografia *Mentolo racemico (0623)*.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi, trascurando ogni picco dovuto al solvente.

Mentone. $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$. (M_r 154,2). 1051700. [14073-97-3]. (-)-*trans-p*-Mentan-3-one. (2*S*,5*R*)-2-Isopropil-5-metilcicloesanoone.

Contiene quantità variabili di isomentone.

Liquido incolore, molto poco solubile in acqua, solubilissimo in alcool e in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,897.

n_D^{20} : circa 1,450.

Il mentone utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza (0405)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 90,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Mercaptipurina. 1051900. [6112-76-1]. Vedere la monografia *Mercaptipurina* (0096).

2-Mercaptoetanolo. C_2H_6OS . (M_r 78,1). 1099300. [60-24-2].

Liquido, miscibile con acqua.

d_{20}^{20} : circa 1,116.

p.e.: circa 157 °C.

Mercurio. Hg. (A_r 200,6). 1052800. [7439-97-6].

Liquido bianco-argento, si frantuma in globuli sferici che non lasciano tracce metalliche per strofinamento su carta.

d_{20}^{20} : circa 13,5.

p.e.: circa 357 °C.

Mercurio soluzione nitrica. 1052801.

Disciogliere cautamente 3 ml di *mercurio R* in 27 ml di *acido nitrico fumante R*. Diluire la soluzione con un volume uguale di *acqua R*.

Conservare al riparo dalla luce e usare entro 2 mesi.

Mercurio(-ico) acetato. $C_4H_6HgO_4$. (M_r 318,7). 1052000. [1600-27-7]. Mercurio diacetato.

Cristalli bianchi, molto solubili in acqua, solubili in alcool.

Mercurio(-ico) acetato soluzione. 1052001.

Disciogliere 3,19 g di *mercurio(-ico) acetato R* in *acido acetico anidro R* e diluire a 100 ml con lo stesso acido. Se necessario, neutralizzare la soluzione con *acido perclorico 0,1 M* usando 0,05 ml di *cristal violetto soluzione R* come indicatore.

Mercurio(-ico) bromuro. $HgBr_2$. (M_r 360,4). 1052100. [7789-47-1]. Mercurio dibromuro.

Cristalli bianchi o debolmente gialli o polvere cristallina, poco solubili in acqua, solubili in alcool.

Mercurio(-ico) bromuro cartina. 1052101.

In una bacinella rettangolare porre una soluzione (50 g/l) di *mercurio(-ico) bromuro R* in *etanolo R* e immergervi pezzi di carta da filtro bianca del peso di 80 g per metro quadrato (velocità di filtrazione = tempo di filtrazione espresso in secondi per 100 ml di acqua a 20 °C su una superficie filtrante di 10 cm² e pressione costante di 6,7 kPa: da 40 s a 60 s), ciascuno di 1,5 cm per 20 cm e piegato in due. Lasciare sgocciolare il liquido in eccesso e lasciar asciugare la carta, proteggendo dalla luce, sospesa su un filo non-metallico. Eliminare dalle estremità di ciascuna striscia 1 cm e tagliare il rimanente in quadrati di 1,5 cm di lato o dischi di 1,5 cm di diametro.

Conservare in un recipiente con tappo a smeriglio avvolto in una carta nera.

Mercurio(-ico) cloruro. 1052200. [7487-94-7]. Vedere la monografia *Mercurio dicloruro* (0120).

Mercurio(-ico) cloruro soluzione. 1052201.

Soluzione 54 g/l.

Mercurio(-ico) ioduro. HgI_2 . (M_r 454,4). 1052300. [7774-29-0]. Mercurio di-ioduro.

Polvere cristallina, scarlatta, densa, poco solubile in acqua, moderatamente solubile in acetone, in alcool e in etere, solubile in un eccesso di *potassio ioduro soluzione R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Mercurio(-ico) nitrato. $Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$. (M_r 342,6). 1052400. [7782-86-7]. Mercurio dinitrato monoidrato.

Cristalli incolori o leggermente colorati, igroscopici, solubili in acqua in presenza di una piccola quantità di acido nitrico.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Mercurio(-ico) ossido. HgO . (M_r 216,6). 1052500. [21908-53-2]. Mercurio ossido giallo. Mercurio ossido.

Polvere da giallo a giallo-arancione, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

Conservare al riparo dalla luce.

Mercurio(-ico) solfato soluzione. 1052600. [7783-35-9]. Reattivo di Denigès.

Disciogliere 1 g di *mercurio(-ico) ossido R* in una miscela di 20 ml di *acqua R* e 4 ml di *acido solforico R*.

Mercurio(-ico) tiocianato. $Hg(SCN)_2$. (M_r 316,7). 1052700. [592-85-8]. Mercurio di(tiocianato).

Polvere cristallina, bianca, molto poco solubile in acqua, poco solubile in alcool e in etere, solubile in soluzioni di sodio cloruro.

Mercurio(-ico) tiocianato soluzione. 1052701.

Disciogliere 0,3 g di *mercurio(-ico) tiocianato R* in *etanolo R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Usare entro una settimana.

Mercurio(-oso) cloruro. Cl_2Hg_2 . Calomelano, mercurio monocloruro.

Polvere pesante, bianca; si decompone lentamente alla luce del sole in mercurio dicloruro e mercurio metallico; sublima a 400-500 °C senza fondere. Praticamente insolubile in acqua; l'acido cloridrico e i cloruri dei metalli alcalini ed alcalini-terrosi aumentano la solubilità in acqua; insolubile in alcool ed in etere.

Mercurio(-oso e -ico) nitrato soluzione. Reattivo di Milon.

Disciogliere 3 ml di *mercurio R* in 27 ml di *acido nitrico fumante R* e diluire la soluzione con un volume uguale di *acqua R*.

Può essere conservato per non più di 2 mesi al riparo dalla luce.

Mesitile ossido. $C_6H_{10}O$. (M_r 98,1). 1120100. [141-79-7]. 4-Metil-3-penten-2-one.

Liquido oleoso incolore, solubile in 30 parti di acqua, miscibile con la maggior parte dei solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,858.

p.e.: da 129 °C a 130 °C.

Metanolo. CH_4O . (M_r 32,04). 1053200. [67-56-1].

Liquido infiammabile, incolore, limpido, miscibile con acqua e con alcool.

d_{20}^{20} : da 0,791 a 0,793.

p.e.: da 64 °C a 65 °C.

Metanolo R1. 1053201.

Soddisfa ai requisiti prescritti per il *metanolo R* e all'ulteriore requisito seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25) determinata usando acqua R come bianco:

20 per cento a 210 nm,

50 per cento a 220 nm,

75 per cento a 230 nm,

95 per cento a 250 nm,

98 per cento a 260 nm e a lunghezze d'onda più elevate.

Metanolo R2. 1053202.

Il metanolo R2 usato nella cromatografia liquida soddisfa agli ulteriori requisiti seguenti:

Contiene non meno del 99,8 per cento di CH_4O (M_r 32,04).

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza a 225 nm usando *acqua R* come bianco non è superiore a 0,17.

Metanolo cloridrico. 1053203. [134-20-3].

Diluire 1,0 ml di *acido cloridrico R1* a 100,0 ml con *metanolo R*.

Metanolo anidro. 1053400. [67-56-1].

Trattare 1000 ml di *metanolo R* con 5 g di *magnesio R*. Se necessario innescare la reazione per aggiunta di 0,1 ml di *mercurio(-ico) cloruro soluzione R*. Quando lo sviluppo di gas è cessato, distillare il liquido e raccogliere il distillato in un recipiente asciutto al riparo dall'umidità.

Acqua (2.5.12). Non più di 0,3 g/l.

Metanolo esente da aldeide. 1053300.

Disciogliere 25 g di *iodio R* in 1 litro di *metanolo R* e versare la soluzione, sotto continua agitazione, in 400 ml di *sodio idrossido 1 M*. Aggiungere 150 ml di *acqua R* e lasciare a riposo per 16 h. Filtrare. Bollire a ricadere fino a scomparsa dell'odore di iodoformio. Effettuare una distillazione frazionata.

Contiene non più dello 0,001 per cento di aldeidi e chetoni.

Metanolo deuterato. C^2H_4O . (M_r 36,1). 1025200. [811-98-3]. (2H)-Metanolo. Metanolo-*d*.

Il grado di deuterazione non è inferiore al 99,8 per cento.

Liquido incolore, limpido, miscibile con acqua, con alcool e con diclorometano.

d_{20}^{20} : circa 0,888.

n_D^{20} : circa 1,326.

p.e.: circa 65,4 °C.

1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina. $C_{12}H_{15}N$. (M_r 173,3) 1137100. [28289-54-5]. MPTP.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, poco solubile in acqua.

p.f.: circa 41 °C.

2-Metil-5-nitroimidazolo. $C_4H_5N_3O_2$. (M_r 127,1). 1056100. [88054-22-2].

Polvere da bianca a leggermente gialla.

p.f.: da 252 °C a 254 °C.

4-Metilamminofenolo solfato. $C_{14}H_{20}N_2O_6S$. (M_r 344,4). 1053800. [55-55-0].

Cristalli incolori, solubilissimi in acqua, poco solubili in alcool, praticamente insolubili in etere.

p.f.: circa 260 °C.

Metilarancio. $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$. (M_r 327,3). 1054800. [547-58-0]. Schultz No. 176. Colour Index No. 13025. Sodio 4'-dimetilamminoazobenzen-4-solfonato. Eliantina.

Polvere cristallina, giallo-arancione, poco solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool.

Metilarancio indicatore misto. 1054801.

Disciogliere 20 mg di *metilarancio R* e 0,1 g di *verde bromocresolo R* in 1 ml di *sodio idrossido 0,2 M* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Viraggio. Da pH 3,0 (arancione) a pH 4,4 (verde-oliva).

Metilarancio soluzione. 1054802.

Disciogliere 0,1 g di *metilarancio R* in 80 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con *alcool R*.

Saggio di sensibilità. Una miscela di 0,1 ml di metilarancio soluzione e 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* è gialla. Non sono necessari più di 0,1 ml di *acido cloridrico 1 M* per far virare la colorazione al rosso.

Viraggio. Da pH 3,0 (rosso) a pH 4,4 (giallo).

Metilarancio-xilene cianolo FF soluzione.

Disciogliere 0,1 g di *metilarancio R* e 0,26 g di *xilene cianolo R* in 50 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Metilbenzotiazolone idrazone cloridrato. $C_8H_{10}ClN_3S.H_2O$. (M_r 233,7). 1055300. [38894-11-0]. 3-Metilbenzotiazol-2(3H)-one idrazone cloridrato monoidrato.

Polvere cristallina, quasi bianca o giallastra.

p.f.: circa 270 °C.

Idoneità per la determinazione delle aldeidi. A 2 ml di *metanolo esente da aldeide R* aggiungere 60 µl di una soluzione (1 g/l) di *aldeide propionica R* in *metanolo esente da aldeide R* e 5 ml di una soluzione (4 g/l) di metilbenzotiazolone idrazone cloridrato. Mescolare. Lasciare a riposo per 30 min. Preparare un bianco omettendo la soluzione di aldeide propionica. Aggiungere 25,0 ml di una soluzione (2 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R* alla soluzione in esame e al bianco, diluire a 100,0 ml con *acetone R* e mescolare. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione in esame, misurata a 660 nm usando il bianco preparato in precedenza, non è inferiore a 0,62.

2-Metilbut-2-ene. C_5H_{10} . (M_r 70,1). 1055400. [513-35-9].

Liquido molto infiammabile, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

p.e.: da 37,5 °C a 38,5 °C.

2-Metilbutano. C_5H_{12} . (M_r 72,2). 1099500. [78-78-4]. Isopentano.

Contiene non meno del 99,5 per cento di C_5H_{12} .

Liquido incolore molto infiammabile.

d_{20}^{20} : circa 0,621.

n_D^{20} : circa 1,354.

p.e.: circa 29 °C.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,02 per cento.

Residuo all'evaporazione. Non superiore allo 0,0003 per cento.

Trasmittanza minima (2.2.25): determinata usando *acqua R* come bianco:

50 per cento a 210 nm,

85 per cento a 220 nm,

98 per cento a 240 nm e a lunghezze d'onda più elevate.

2-Metil-2-butanolo. Vedere *alcool tert-pentilico R*.

Metilcellulosa 450. 1055500. [9004-67-5]. Vedere la monografia *Metilcellulosa (0345)*.

La viscosità nominale è 450 mPas.

3-O-Metildopamina cloridrato. $C_9H_{14}ClNO_2$. (M_r 203,7). 1055600. [1477-68-5]. 4-(2-Amminoetil)-2-metossifenolo cloridrato.

p.f.: da 213 °C a 215 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Dopamina cloridrato (0664)*, deponendo 10 µl di una soluzione (0,075 g/l) in *metanolo R*. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

4-O-Metildopamina cloridrato. $C_9H_{14}ClNO_2$. (M_r 203,7). 1055700. [645-33-0]. 5-(2-Amminoetil)-2-metossifenolo cloridrato.

p.f.: da 207 °C a 208 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Dopamina cloridrato (0664)*, deponendo 10 µl di una soluzione (0,075 g/l) in *metanolo R*. Il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Metile acetato. $C_3H_6O_2$. (M_r 74,1). 1053700. [79-20-9].

Liquido incolore, limpido, solubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,933.

n_D^{20} : circa 1,361.

p.e.: da 56 °C a 58 °C.

Metile antranilato. $C_8H_9NO_2$. (M_r 151,2). 1107300. [134-20-3]. Metil 2-amminobenzoato.

Cristalli incolori o liquido incolore o giallastro, solubili in acqua, molto solubili in alcool e in etere.

p.f.: da 24 °C a 25 °C.

p.e.: da 134 °C a 136 °C.

Il metile antranilato utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza (1175)*, usando la sostanza in esame come soluzione in esame. L'area del picco principale non è inferiore al 95,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Metile arachidato. $C_{21}H_{42}O_2$. (M_r 326,6). 1053900. [1120-28-1]. Metile eicosanoato.

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{21}H_{42}O_2$, determinato mediante gas cromatografia (2.4.22).

Massa cristallina, bianca o gialla, solubile in alcool e in etere di petrolio.

p.f.: circa 46 °C.

Metile beenato. $C_{23}H_{46}O_2$. (M_r 354,6). 1107500. [929-77-1]. Metile docosanoato.

p.f.: da 54 °C a 55 °C.

Metile caprato. 1054000. Vedere *metile decanoato R*.

Metile caprilato. $C_9H_{18}O_2$. (M_r 158,2). 1120400. [111-11-5]. Metile ottanoato.
 d_{20}^{20} : circa 0,876.
 n_D^{20} : circa 1,417.
 p.e.: da 193 °C a 194 °C.

Metile caproato. $C_7H_{14}O_2$. (M_r 130,2). 1120300. [106-70-7]. Metile esanoato.
 d_{20}^{20} : circa 0,885.
 n_D^{20} : circa 1,405.
 p.e.: da 150 °C a 151 °C.

Metile cinnamato. $C_{10}H_{10}O_2$. (M_r 162,2). 1099400. [103-26-4].
 Cristalli incolori praticamente insolubili in acqua, solubili in alcool e in etere.
 n_D^{20} : circa 1,56.
 p.e.: circa 260 °C.
 p.f.: da 34 °C a 36 °C.

Metile decanoato. $C_{11}H_{22}O_2$. (M_r 186,3). 1054000. [110-42-9]. Metile *n*-decanoato.
 Contiene non meno del 99,0 per cento di $C_{11}H_{22}O_2$.
 Liquido incolore o giallo, limpido, solubile in etere di petrolio.
 d_{20}^{20} : da 0,871 a 0,876.
 n_D^{20} : da 1,425 a 1,426.
Sostanze estranee. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), iniettando uguali volumi di ciascuna delle seguenti soluzioni: (I) soluzione (0,02 g/l) della sostanza in esame in *carbonio solfuro R*, (II) soluzione (2 g/l) della sostanza in esame in *carbonio solfuro R* e (III) *carbonio solfuro R*. Effettuare il procedimento cromatografico nelle condizioni del saggio per il butilidrossitoluene prescritto nella monografia *Lanolina* (0134). Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione (II) l'area totale dei picchi, ad eccezione del picco del solvente e del picco principale, è inferiore all'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione (I).

Metile eicosenoato. $C_{21}H_{40}O_2$. (M_r 324,5). 1120500. [2390-09-2]. Metile (11*Z*)-eicos-11-enoato.

Metile erucato. $C_{23}H_{44}O_2$. (M_r 352,6). 1146100. [1120-34-9]. *cis*-13-Docosenoato di metile.
 d_{20}^{20} : 0,871 circa.
 n_D^{20} : 1,456 circa.

Metile laurato. $C_{13}H_{26}O_2$. (M_r 214,4). 1054400. [111-82-0]. Metile dodecanoato.
 Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{13}H_{26}O_2$, determinato mediante gas cromatografia (2.4.22).

Liquido incolore o giallo, solubile in alcool e in etere di petrolio.
 d_{20}^{20} : circa 0,87.
 n_D^{20} : circa 1,431.
 p.f.: circa 5 °C.

Metile lignocerato. $C_{25}H_{50}O_2$. (M_r 382,7). 1120600. [2442-49-1]. Metile tetracosanoato.
 Lamine.
 p.f.: circa 58 °C.

Metile linoleato. $C_{19}H_{34}O_2$. (M_r 294,5). 1120700. [112-63-0]. Metile (9*Z*,12*Z*)-ottadeca-9,12-dienoato.
 d_{20}^{20} : circa 0,888.
 n_D^{20} : circa 1,466.
 p.e.: da 207 °C a 208 °C.

Metile linolenato. $C_{19}H_{32}O_2$. (M_r 292,5). 1120800. [301-00-8]. Metile (9*Z*,12*Z*,15*Z*)-ottadeca-9,12,15-trienoato.
 d_{20}^{20} : circa 0,901.
 n_D^{20} : circa 1,471.
 p.e.: circa 207 °C.

Metile γ -linolenato. $C_{19}H_{32}O_2$. (M_r 292,5). 1158400. [16326-32-2]. Metile (6*Z*,9*Z*,12*Z*)-ottadeca-6,9,12-trienoato.
Contenuto: non inferiore al 99,0 per cento di $C_9H_{32}O_2$, determinato mediante gas cromatografia.

Metile margarato. $C_{18}H_{36}O_2$. (M_r 284,5). 1120900. [1731-92-6]. Metile eptadecanoato.
 Polvere bianca o quasi bianca.
 p.f.: da 32 °C a 34 °C.
Il metile margarato utilizzato nella determinazione quantitativa degli acidi grassi totali nella monografia Sabal frutto (1848) soddisfa anche al seguente saggio.
Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), come prescritto nella monografia *Sabal frutto (1848)*.
 Il contenuto non è inferiore al 97 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Metile metacrilato. $C_5H_8O_2$. (M_r 100,1). 1054500. [80-62-6]. Metile 2-metil-2-propenoato.
 Liquido incolore.
 n_D^{20} : circa 1,414.
 p.e.: circa 100 °C.
 p.f.: circa -48 °C.
 Contiene un idoneo stabilizzante.

Metile miristato. $C_{15}H_{30}O_2$. (M_r 242,4). 1054600. [124-10-7]. Metile tetradecanoato.
 Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{15}H_{30}O_2$, determinato mediante gas cromatografia (2.4.22).

Liquido incolore o leggermente giallo, solubile in alcool e in etere di petrolio.

d_{20}^{20} : circa 0,87.

n_D^{20} : circa 1,437.

p.f.: circa 20 °C.

Metile oleato. $C_{19}H_{36}O_2$. (M_r 296,4). 1054700. [112-62-9]. Metile (Z)-ottadec-9-enoato.

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{19}H_{36}O_2$, determinato mediante gas cromatografia (2.4.22).

Liquido incolore o leggermente giallo, solubile in alcool e in etere di petrolio.

d_{20}^{20} : circa 0,88.

n_D^{20} : circa 1,452.

Metile palmitato. $C_{17}H_{34}O_2$. (M_r 270,5). 1054900. [112-39-0]. Metile esadecanoato.

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{17}H_{34}O_2$, determinato mediante gas cromatografia (2.4.22).

Massa cristallina, bianca o gialla, solubile in alcool e in etere di petrolio.

p.f.: circa 30 °C.

Metile palmitoleato. $C_{17}H_{32}O_2$. (M_r 268,4). 1121000. [1120-25-8]. Metile (9Z)-esadec-9-enoato.

d_{20}^{20} : circa 0,876.

n_D^{20} : circa 1,451.

Metile paraidrossibenzoato. 1055000. [99-76-3]. Vedere la monografia *Metile paraidrossibenzoato* (0409).

Metile pelargonato. $C_{10}H_{20}O_2$. (M_r 172,3). 1143500. [1731-84-6]. Metile nonanoato.

Liquido limpido, incolore.

d_4^{20} : 0,873 circa.

n_D^{20} : 1,422 circa.

p.e.: da 91 °C a 92 °C.

Il metile pelargonato utilizzato nel dosaggio degli acidi grassi totali del Sabal frutto (1848) soddisfa anche al seguente saggio.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), secondo le indicazioni prescritte dalla monografia *Sabal frutto* (1848).

Il contenuto di metile pelargonato non è inferiore al 98 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Metile stearato. $C_{19}H_{38}O_2$. (M_r 298,5). 1055200. [112-61-8]. Metile ottadecanoato.

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{19}H_{38}O_2$, determinato mediante gas cromatografia (2.4.22).

Massa cristallina, bianca o gialla, solubile in alcool e in etere di petrolio.

p.f.: circa 38 °C.

Metile tricosanoato. $C_{24}H_{48}O_2$. (M_r 368,6). 1111500. [2433-97-8]. Acido tricosanoico metil estere.

Contiene non meno del 99,0 per cento di $C_{24}H_{48}O_2$. Cristalli bianchi, praticamente insolubili in acqua, solubili in esano.

p.f.: da 55 °C a 56 °C.

Metile tridecanoato. $C_{14}H_{28}O_2$. (M_r 228,4). 1121100. [1731-88-0].

Liquido incolore o leggermente giallo, solubile in alcool e in etere di petrolio.

d_{20}^{20} : circa 0,86.

n_D^{20} : circa 1,441.

p.f.: circa 6 °C.

Metilenbisacrilammide. $C_7H_{10}N_2O_2$. (M_r 154,2). 1056000. [110-26-9]. *N,N'*-Metilenbispropenamamide.

Polvere bianca o quasi bianca, fine, poco solubile in acqua, solubile in alcool.

p.f.: fonde con decomposizione ad una temperatura superiore a 300 °C.

Metilene cloruro. Vedere *diclorometano R*.

3-O-Metilestrone. $C_{19}H_{24}O_2$. (M_r 284,4). 1137000. [1624-62-0]. 3-Metossi-1,3,5(10)-estratrien-17-one.

Polvere bianca o bianco-giallastra.

$[\alpha]_D^{20}$: circa +157.

p.f.: circa 173 °C.

Metiltilchetone. C_4H_8O . (M_r 72,1). 1054100. [78-93-3]. Etilmtilchetone. 2-Butanone.

Liquido infiammabile, incolore, limpido, solubilissimo in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,81.

p.e.: da 79 °C a 80 °C.

Metilfenilossazolilbenzene. $C_{26}H_{20}N_2O_2$. (M_r 392,5). 1056200. [3073-87-8]. 1,4-Bis[2-(4-metil-5-fenil)ossazolil]benzene.

Polvere giallo-verdastra con una fluorescenza blu, fine, o piccoli cristalli, solubili in alcool, moderatamente solubili in xilene.

p.f.: circa 233 °C.

Il metilfenilossazolilbenzene utilizzato per scintillazione liquida è di idonea qualità analitica.

1-Metilimidazolo. $C_4H_6N_2$. (M_r 82,1). 1139700. [616-47-7]. 1-Metil-1*H*-imidazolo.

Liquido incolore o leggermente giallastro.

n_D^{20} : circa 1,495.

p.e.: da 195 °C a 197 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Metilisobutilchetone. Vedere *isobutilmetilchetone R*.

Metilisobutilchetone R1. Vedere *isobutilmetilchetone R1*.

2-Metil-5-nitroimidazolo. $C_4H_5N_3O_2$. (M_r 127,1). 1056100. [88054-22-2].

Polvere da bianca a gialla chiara.

p.f.: da 252 °C a 254 °C.

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_4H_5N_3O_2$.

4-Metilpentan-2-olo. $C_6H_{14}O$. (M_r 102,2). 1114300. [108-11-2].

Liquido volatile, limpido, incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,802.

n_D^{20} : circa 1,411.

p.e.: circa 132 °C.

Metilpiperazina. $C_5H_{12}N_2$. (M_r 100,2). 1056300. [74879-18-8]. 1-Metilpiperazina.

Liquido incolore, miscibile con acqua e con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,90.

n_D^{20} : circa 1,466.

p.e.: circa 138 °C.

4-(4-Metilpiperidino)piridina. $C_{11}H_{16}N_2$. (M_r 176,3). 1114400. [80965-30-6].

Liquido limpido.

n_D^{20} : circa 1,565.

2-Metilpropanolo. $C_4H_{10}O$. (M_r 74,1). 1056400. [78-83-1]. Alcool isobutilico. 2-Metilpropan-1-olo

Liquido incolore limpido, solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,80.

n_D^{15} : da 1,397 a 1,399.

p.e.: circa 107 °C.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 96 per cento distilla tra 107 °C e 109 °C.

2-Metil-2-propanolo. $C_4H_{10}O$. (M_r 74,1). 1056500. [75-65-0]. Alcool 1,1-dimetiletico. Alcool *tert*-butilico. *Tert*-Butanolo.

Liquido incolore, limpido o massa cristallina, solubili in acqua, miscibili con alcool e con etere.

Punto di solidificazione (2.2.18). Circa 25 °C.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 81 °C e 83 °C.

Metiltoluen-4-solfonato.

Massa solida, colorata, cristallina.

***N*-Metiltrimetilsilil-trifluoroacetammide.**

$C_6H_{12}F_3NOSi$. (M_r 199,3). 1129600. [24589-78-4].

2,2,2-Trifluoro-*N*-metil-*N*-(trimetilsilil)acetammide.

n_D^{20} : circa 1,380.

p.e.: da 130 °C a 132 °C.

DL-Metionina. 1129400. [59-51-8]. Vedere la monografia DL-Metionina (0624).

L-Metionina. 1053500. [63-68-3]. Vedere la monografia Metionina (1027).

***trans*-2-Metossicinnamaldeide.** $C_{10}H_{10}O_2$. (M_r 162,2). 1129500. [60125-24-8].

p.f.: da 44 °C a 46 °C.

La trans-2-Metossicinnamaldeide utilizzata in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Cannella di Cina essenza (1496)*.

Il contenuto non è inferiore al 96,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Metossicloro. $C_{16}H_{15}Cl_3O_2$. (M_r 345,7). 1129300. [72-43-5]. 1,1-(2,2,2-Tricloroetiliden)-bis(4-metossibenzene).

Praticamente insolubile in acqua, molto solubile nella maggior parte dei solventi organici.

p.e.: circa 346 °C.

p.f.: da 78 °C a 86 °C.

Può essere utilizzata un'adeguata e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

Metossietanolo. Vedere *glicole etilenico monometil-tere R*.

Metossifenilacetico reattivo. 1053601.

Disciogliere 2,7 g di *acido metossifenilacetico R* in 6 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e aggiungere 20 ml di *etanolo R*.

Conservare in un recipiente di polietilene.

(RS)-Metotrexato. 1120200. [60388-53-6]. Acido (RS)-2-[4-[[[(2,4-diamminopteridin-6-il)metil]metilammino]-benzoilammino]pentandioico.

Contiene non meno del 96,0 per cento di $C_{20}H_{22}N_8O_5$. p.f.: circa 195 °C.

Miosmina. $C_9H_{10}N_2$. (M_r 146,2). 1121200. [532-12-7]. 3-(4,5-Diidro-3*H*-pirrol-2-il)piridina.

Cristalli incolori.

p.f.: circa 45 °C.

β-Mircene. $C_{10}H_{16}$. (M_r 136,2). 1114500. [123-35-3]. 7-Metil-3-metilenotta-1,6-diene.

Liquido oleoso con un odore piacevole, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool, solubile in etere e in acido acetico glaciale. Si scioglie nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

d_4^{20} : circa 0,794.

n_D^{20} : circa 1,470.

Il β-mircene usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza* (0405).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 90,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto.

Miristicina. $C_{11}H_{12}O_3$. (M_r 192,2). 1099600. [607-91-0]. 5-Allil-1-metossi-2,3-metilendioossibenzene. 4-Metossi-6-(2-propenil)-1,3-benzodiossolo.

Liquido incolore oleoso, praticamente insolubile in acqua, poco solubile in etanolo, solubile in etere, miscibile con toluene e con xilene.

d_{20}^{20} : circa 1,144.

n_D^{20} : circa 1,540.

p.e.: da 276 °C a 277 °C.

p.f.: circa 173 °C.

Cromatografia. Esaminato come prescritto nella monografia *Anice stellato* (1153), il cromatogramma ottenuto presenta solo una macchia principale.

Il contenuto non è inferiore al 95,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Conservare in un luogo fresco, al riparo dalla luce.

Mirtillo nero estratto secco idroalcolico ad alto titolo. Polvere di colore viola-rossastro scuro.

Assorbanza (2.2.25). La soluzione contenente il 2 per cento V/V di *acido cloridrico concentrato R* in *metanolo R* presenta due massimi di assorbimento rispettivamente a 280 nm e a 535 nm.

Miscela riducente. 1074700.

Polverizzare le sostanze aggiunte nel seguente ordine fino ad ottenere una miscela omogenea: 20 mg di *potassio bromuro R*, 0,5 g di *idrazina solfato R* e 5 g di *sodio cloruro R*.

Miscela solfocromica. 1019700.

Soluzione satura di *cromo triossido R* in *acido solforico R*.

Molibdovanadico reattivo. 1056700.

In un bicchiere da 150 ml, mescolare 4 g di *ammonio molibdato R* finemente polverizzato e 0,1 g di *ammonio vanadato R* finemente polverizzato. Aggiungere 70 ml di *acqua R* e tritare le particelle usando una bacchetta di vetro. Si ottiene una soluzione limpida in pochi minuti. Aggiungere 20 ml di *acido nitrico R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Mordente nero 11. Vedere *nero mordente 11 R*.

Mordente nero 11 miscela composta. Vedere *nero mordente 11 miscela composta R*.

Morfina cloridrato. 1056900. Vedere la monografia *Morfina cloridrato* (0097).

Morfolina. C_4H_9NO . (M_r 87,1). 1057000. [110-91-8]. Tetraidro-1,4-ossazina.

Liquido igroscopico, incolore, infiammabile, solubile in acqua e in alcool.

d_{20}^{20} : circa 1,01.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 126 °C e 130 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Morfolina per cromatografia. 1057001.

Soddisfa ai requisiti della *morfolina R* e all'ulteriore saggio seguente:

Contiene non meno del 99,5 per cento di C_4H_9NO .

Muresside. $C_8H_8N_6O_6 \cdot H_2O$. (M_r 302,2). 1137200. Sale 5,5'-Nitribis(pirimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trione)monoammonico.

Polvere cristallina rosso-brunastra, moderatamente solubile in acqua fredda, solubile in acqua calda, praticamente insolubile in alcool, solubile in soluzioni di potassio idrossido o sodio idrossido in cui sviluppa una colorazione blu.

Naftalene. $C_{10}H_8$. (M_r 128,2). 1057100. [91-20-3].

Cristalli bianchi, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in etere, solubili in alcool.

p.f.: circa 80 °C.

Il naftalene utilizzato per la scintillazione liquida è di un'ideone qualità analitica.

Naftarsona. $C_{16}H_{11}AsN_2Na_2O_{10}S_2$. (M_r 576,3). 1121400. [132-33-2]. Torin. Disodio 4-[(2-arsonofenil)azo]-3-idrossinaftalen-2,7-disolfonato.

Polvere rossa, solubile in acqua.

Naftarsona soluzione. 1121401.

Soluzione 0,58 g/l.

Saggio per la sensibilità. A 50 ml di *alcool R*, aggiungere 20 ml di *acqua R*, 1 ml di *acido solforico 0,05 M* e 1 ml di naftarsona soluzione. Titolare con *bario perclorato 0,025 M*; il colore vira dal giallo-arancione al rosa-arancione.

Conservare al riparo dalla luce e usare entro una settimana.

Naftilammina. $C_{10}H_9N$. (M_r 143,2). 1057700. [134-32-7]. 1-Naftilammina.

Polvere cristallina, bianca, che vira al rosa per esposizione alla luce e all'aria, poco solubile in acqua, molto solubile in alcool e in etere.

p.f.: circa 51 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Naftiletilendiammina dicloridrato. $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$. (M_r 259,2). 1057800. [1465-25-4]. *N*-(1-Naftil)etilen-diammina dicloridrato.

Può contenere metanolo di cristallizzazione.

Polvere da bianca a bianco-giallastra, solubile in acqua, poco solubile in alcool.

Naftolbenzeina. $C_{27}H_{20}O_3$. (M_r 392,5). 1057600. [6948-88-5]. α -Naftolbenzeina. Fenilbis(4-idrossi-1-naftil)metanolo.

Polvere rosso-brunastra o cristalli nero-brunastri, lucenti, praticamente insolubili in acqua, solubili in alcool e in acido acetico glaciale.

Naftolbenzeina soluzione. 1057601.

Soluzione 2 g/l in *acido acetico anidro R*.

Saggio di sensibilità. A 50 ml di *acido acetico glaciale R* aggiungere 0,25 ml di naftolbenzeina soluzione. La soluzione è giallo-brunastra. Non sono necessari più di 0,05 ml di *acido perclorico 0,1 M* per far virare la colorazione al verde.

α -Naftolo. $C_{10}H_8O$. (M_r 144,2). 1057300. [90-15-3]. 1-Naftolo.

Polvere cristallina bianca o cristalli bianchi o incolori, che imbruniscono per esposizione alla luce, poco solubili in acqua, molto solubili in alcool e in etere.

p.f.: circa 95 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

α -Naftolo soluzione. 1057301.

Disciogliere 0,10 g di α -naftolo *R* in 3 ml di una soluzione (150 g/l) di *sodio idrossido R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

β -Naftolo. $C_{10}H_8O$. (M_r 144,2). 1057400. [135-19-3]. 2-Naftolo.

Lamine bianche o leggermente rosate o cristalli, molto poco solubili in acqua, solubilissimi in alcool.

p.f.: circa 122 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

β -Naftolo soluzione. 1057401.

Disciogliere 5 g di β -naftolo *R* ricristallizzato di recente in 40 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

β -Naftolo soluzione R1. 1057402.

Disciogliere 3,0 mg di β -naftolo *R* in 50 ml di *acido solforico R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso acido. Usare una soluzione preparata di recente.

Naringina. $C_{27}H_{32}O_{14}$. (M_r 580,5). 1137300. [10236-47-2]. 7-[[2-*O*-(6-desossi- α -L-mannopiranosil)- β -D-glucopiranosil]ossi]-5-idrossi-2-(4-idrossifenil)-2,3-diidro-4*H*-cromen-4-one.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, poco solubile in acqua, solubile in metanolo e in dimetilformammide.

p.f.: circa 171 °C.

Assorbanza (2.2.25). La naringina disciolta in una soluzione di *dimetilformammide R* (5 g/l) in *metanolo R* mostra un massimo di assorbimento a 283 nm.

Nerile acetato. $C_{12}H_{20}O_2$. (M_r 196,3). 1108000. [141-12-8]. (*Z*)-3,7-Dimetilotta-2,6-dienil acetato.

Liquido oleoso incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,907.

n_D^{20} : circa 1,460.

p.e.₂₅: circa 134 °C.

Il nerile acetato utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza (1175)*, usando la sostanza da esaminare come soluzione in esame. L'area del picco principale non è inferiore al 93,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Nero amido 10 B. $C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$. (M_r 617). 1003100. [1064-48-8]. Schultz No. 299. Colour Index No. 20470. Disodio 5-ammino-4-idrossi-6-[(4-nitrofenil)azo]-3-(fenilazo)naftalene-2,7-disolfonato.

Polvere nera o marrone scura, moderatamente solubile in acqua, solubile in alcool.

Nero amido 10 B soluzione. 1003101.

Soluzione 5 g/l di *nero amido 10 B R* in una miscela di 10 volumi di *acido acetico R* e 90 volumi di *metanolo R*.

Nero eriocromo. Vedere *nero mordente 11 R*.

Nero mordente 11. $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$. (M_r 461,4). 1056800. [1787-61-7]. Schultz No. 241. Colour Index No. 14645. Sodio 2-idrossi-1-[(1-idrossi-2-naftil)azo]-6-nitronaftalen-4-solfonato. Nero eriocromo.

Polvere nero-brunastra, solubile in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

Nero mordente 11 miscela composta. 1056801.

Mescolare 1 g di *nero mordente 11 R* con 99 g di *sodio cloruro R*.

Saggio di sensibilità. Disciogliere 50 mg in 100 ml di *acqua R*. La soluzione è violetto-brunastra. Per aggiunta di 0,3 ml di *ammoniaca diluita R1* la solu-

zione vira al blu. Per aggiunta successiva di 0,1 ml di una soluzione (10 g/l) di *magnesio solfato R*, la soluzione vira al violetto.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

trans-Nerolidolo. $C_{15}H_{26}O$. (M_r 222,4). 1107900. [40716-66-3]. 3,7,11-Trimetildodeca-1,6,10-trien-3-olo.

Liquido leggermente giallo, con leggero odore di giglio e giglio della valle, praticamente insolubile in acqua e in glicerolo, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,876.

n_D^{20} : circa 1,479.

p.e.₁₂: da 145 °C a 146 °C.

Il trans-nerolidolo utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza (1175)*, usando la sostanza da esaminare come soluzione in esame. L'area del picco principale non è inferiore al 90,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Nichel alluminio lega. Vedere *lega nichel-alluminio R*.

Nichel cloruro. $NiCl_2$. (M_r 129,6). 1057900. [7718-54-9]. Nichel cloruro, anidro.

Polvere cristallina, gialla, solubilissima in acqua, solubile in alcool. Sublima in assenza di aria e assorbe velocemente ammoniaca. La soluzione acquosa è acida.

Nichel solfato. $NiSO_4 \cdot 7H_2O$. (M_r 280,9). 1058000. [10101-98-1]. Nichel solfato eptaidrato.

Polvere cristallina o cristalli verdi, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool.

Nicotinamide-adenina dinucleotide. $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$. (M_r 663). 1108100. [53-84-9]. NAD^+ .

Polvere bianca, molto igroscopica, molto solubile in acqua.

Nicotinamide-adenina dinucleotide soluzione. 1108101.

Disciogliere 40 mg di *nicotinamide-adenina dinucleotide R* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ninidrina. $C_9H_4O_3 \cdot H_2O$. (M_r 178,1). 1058300. [485-47-2]. 1,2,3-Indantrione monoidrato.

Polvere cristallina, bianca o giallo molto pallido, solubile in acqua e in alcool, poco solubile in etere.

Conservare al riparo dalla luce.

Ninidrina soluzione. 1058303.

Soluzione 2 g/l di *ninidrina R* in una miscela di 5 volumi di *acido acetico diluito R* e 95 volumi di *butanolo R*.

Ninidrina soluzione R1. 1058304.

Disciogliere 1,0 g di *ninidrina R* in 50 ml di *alcool R* e aggiungere 10 ml di *acido acetico glaciale R*.

Ninidrina soluzione R2. 1058305.

Disciogliere 3 g di *ninidrina R* in 100 ml di una soluzione (45,5 g/l) di *sodio metabisolfito R*.

Ninidrina soluzione R3. 1058306.

Soluzione 4 g/l in una miscela di 5 volumi di *acido acetico anidro R* e 95 volumi di *butanolo R*.

Ninidrina e stagno(-oso) cloruro reattivo. 1058301.

Disciogliere 0,2 g di *ninidrina R* in 4 ml di *acqua R* calda, aggiungere 5 ml di una soluzione (1,6 g/l) di *stagno(-oso) cloruro R*, lasciare a riposo per 30 min, poi filtrare e conservare ad una temperatura di 2-8 °C. Immediatamente prima dell'uso diluire 2,5 ml della soluzione con 5 ml di *acqua R* e 45 ml di *2-propanolo R*.

Ninidrina e stagno(-oso) cloruro reattivo R1. 1058302.

Disciogliere 4 g di *ninidrina R* in 100 ml di *glicole etilenico monometil etero R*. Agitare leggermente con 1 g di *resina a scambio cationico R* (300-840 μm) e filtrare (soluzione a). Disciogliere 0,16 g di *stagno(-oso) cloruro R* in 100 ml di *tampone soluzione a pH 5,5 R* (soluzione b). Immediatamente prima dell'uso, mescolare volumi uguali di ciascuna soluzione.

Nitroanilina. $C_6H_6N_2O_2$. (M_r 138,1). 1058600. [100-01-6]. 4-Nitroanilina.

Polvere cristallina, giallo brillante, molto poco solubile in acqua, moderatamente solubile in acqua bollente, solubile in alcool e in etere, forma sali solubili in acqua con acidi minerali forti.

p.f.: circa 147 °C.

Nitroanilina diazotata soluzione.

Disciogliere 0,4 g di *nitroanilina R* in 60 ml di *acido cloridrico 1 M*; raffreddare a 15 °C e aggiungere una soluzione (100 g/l) di *sodio nitrito R* finché una goccia della miscela colori in azzurro l'*amido iodato cartina R*. Preparare la soluzione di recente.

Nitrobenzaldeide. $C_7H_5NO_3$. (M_r 151,1). 1058700. [552-89-6]. 2-Nitrobenzaldeide.

Aghi gialli, poco solubili in acqua, molto solubili in alcool, solubili in etere, volatili in corrente di vapore.

p.f.: circa 42 °C.

Nitrobenzaldeide cartina. 1058701.

Disciogliere 0,2 g di *nitrobenzaldeide R* in 10 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio idrossido R*. Usare la soluzione entro 1 h. Immergere la metà inferiore di una striscia di carta da filtro lenta lunga 10 cm e larga 0,8-1 cm. Lasciare assorbire il reattivo in eccesso tra due fogli di carta da filtro. Usare entro pochi minuti dalla preparazione.

Nitrobenzaldeide soluzione. 1058702.

Aggiungere 0,12 g di *nitrobenzaldeide R* polverizzata a 10 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*; lasciare a riposo per 10 min agitando di frequente e filtrare. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Nitrobenzene. $C_6H_5NO_2$. (M_r 123,1). 1058800. [98-95-3]. Liquido incolore o lievemente giallo, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere. p.e.: circa 211 °C.

Dinitrobenzene. A 0,1 ml aggiungere 5 ml di *acetone R*, 5 ml di *acqua R* e 5 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Agitare e lasciare a riposo. Lo strato superiore è quasi incolore.

Nitrobenzile cloruro. $C_7H_6ClNO_2$. (M_r 171,6). 1059000. [100-14-1]. 4-Nitrobenzile cloruro.

Cristalli gialli pallidi, lacrimogeni, praticamente insolubili in acqua, solubilissimi in alcool e in etere.

Nitrobenzoile cloruro. $C_7H_4ClNO_3$. (M_r 185,6). 1058900. [122-04-3]. 4-Nitrobenzoile cloruro.

Cristalli gialli o massa cristallina, che si decompongono in aria umida, completamente solubili nelle soluzioni di sodio idrossido dando luogo ad una colorazione arancione-giallastra.

p.f.: circa 72 °C.

4-(4-Nitrobenzil)piridina. $C_{12}H_{10}N_2O_2$. (M_r 214,2). 1101900. [1083-48-3].

Polvere gialla.

p.f.: circa 70 °C.

Nitrocromico reattivo. 1059100.

Disciogliere 0,7 g di *potassio dicromato R* in *acido nitrico R* e diluire a 100 ml con lo stesso acido.

Nitroetano. $C_2H_5NO_2$. (M_r 75,1). 1059200. [79-24-3].

Liquido incolore, oleoso, limpido.

p.e.: circa 114 °C.

4-Nitrofenolo. $C_6H_5NO_3$. (M_r 139,1). 1146400. [100-02-7]. *p*-Nitrofenolo.

Contiene non meno del 95 per cento di $C_6H_5NO_3$.

Polvere incolore o leggermente gialla, poco solubile in acqua e in metanolo.

p.f.: 114 °C circa.

Nitrofurantoina. 1099700. [67-20-9]. Vedere la monografia *Nitrofurantoina (0101)*.

Nitrofurfuraldiacetato. Vedere *(5-nitro-2-furil)metilene diacetato R*.

(5-Nitro-2-furil)metilene diacetato. $C_9H_9NO_7$. (M_r 243,2). 1099800. [92-55-7]. Nitrofurfurale diacetato. 5-Nitrofurfurilidene diacetato.

Cristalli gialli.

p.f.: circa 90 °C.

Nitrometano. CH_3NO_2 . (M_r 61,0). 1059700. [75-52-5]. Liquido oleoso, incolore, limpido, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : da 1,132 a 1,134.

n_D^{20} : da 1,381 a 1,383.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 100 °C e 103 °C.

Nitro-vanadomolibdico reattivo. 1060100.

Soluzione I. Disciogliere 10 g di *ammonio molibdato R* in *acqua R*, aggiungere 1 ml di *ammoniaca R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Soluzione II. Disciogliere 2,5 g di *ammonio vanadato R* in *acqua R* calda, aggiungere 14 ml di *acido nitrico R* e diluire a 500 ml con *acqua R*.

A 96 ml di *acido nitrico R* aggiungere 100 ml della soluzione I e 100 ml della soluzione II e diluire a 500 ml con *acqua R*.

N-Nitrosodietanolammina. $C_4H_{10}N_2O_3$. (M_r 134,1). 1129800. [1116-54-7]. 2,2'-(Nitrosoimino)dietanolo.

Liquido giallo, miscibile con etanolo.

n_D^{20} : circa 1,485.

p.e.: circa 125 °C.

Nitrosodipropilammina. $C_6H_{14}N_2O$. (M_r 130,2). 1099900. [621-64-7]. Dipropilnitrosammina.

Liquido, solubile in etanolo, in etere e negli acidi forti.

d_{20}^{20} : circa 0,915.

p.e.: circa 78 °C.

Reattivo di qualità idonea per la determinazione della chemiluminescenza.

Nitrosodipropilammina soluzione. 1099901.

Iniettare 78,62 g di *etanolo R* attraverso il setto di una fiala contenente *nitrosodipropilammina R*. Diluire 1 a 100 con *etanolo R* e porre aliquote da 0,5 ml in fiale sigillate per compressione.

Conservare al buio a 5 °C.

Nonilammina. $C_9H_{21}N$. (M_r 143,3). 1139800. [112-20-9]. 1-Amminononano.

Liquido limpido, incolore, corrosivo.

d_4^{20} : 0,788 circa.

n_D^{20} : 1,433 circa.

Nonivamide. $C_{17}H_{27}NO_3$. (M_r 293,4). 1148500. [2444-46-4]. *N*-[(4-Idrossi-3-metossifenil)metil]nonanammide.

Polvere bianca, cristallina, praticamente insolubile in acqua fredda, molto solubile in etanolo.

La nonivamide utilizzata nel saggio per la nonivamide nella monografia Capsico (1859) soddisfa i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Capsico (1859)*.

Il contenuto di nonivamide non è inferiore al 98,0 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Nordazepam. $C_{15}H_{11}ClN_2O$. (M_r 270,7). 1060200. [340-57-8]. 7-Cloro-2,3-diidro-5-fenil-1*H*-1,4-benzodiazepin-2-one.

Polvere cristallina bianca o giallo pallido, praticamente insolubile in acqua, poco solubile in alcool.

p.f.: circa 216 °C.

DL-Norleucina. $C_6H_{13}NO_2$. (M_r 131,2). 1060300. [616-06-8]. Acido (*RS*)-2-Amminoesanoico.

Cristalli lucenti, moderatamente solubili in acqua e in alcool, solubili negli acidi.

Noscapina cloridrato. 1060500. [912-60-7]. Vedere la monografia *Noscapina cloridrato (0515)*.

Oleammide. $C_{18}H_{35}NO$. (M_r 281,5). 1060900. (*Z*)-Ottadec-9-enoammide.

Polvere o granuli giallastri o bianchi, praticamente insolubili in acqua, solubilissimi in diclorometano, solubili in etanolo.

p.f.: circa 80 °C.

Oleuropeina. $C_{25}H_{32}O_{13}$. (M_r 540,5). 1152900. [32619-42-4]. 2-(3,4-Diidrossifenil)etil[(2*S*,3*E*,4*S*)-3-etiliden-2-(*b*-d-glucopiranosilossi)-5-(metossicarbonil)-3,4-diidro-2*H*-piran-4-il]acetato.

Polvere, solubile in metanolo.

L'Oleuropeina utilizzata nella monografia Olivo foglia (1878) soddisfa i seguenti requisiti.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Olivo foglia (1878)*.

Il contenuto di oleuropeina non è inferiore all'80 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Olio di colza. 1074600. Vedere la monografia *Olio di colza, raffinato (1369)*.

Olio di girasole. 1086900. Vedere la monografia *Olio di girasole, raffinato (1371)*.

Olio di girasole raffinato. 1086900.

Vedere la monografia *Olio di girasole raffinato (1371)*.

Olio di mais. 1050400. Vedere la monografia *Olio di mais, raffinato (1342)*.

Olio di oliva. 1061000. [8001-25-0]. Vedere la monografia *Olio di oliva vergine (0518)*.

Olio di ricino poliossietilato. 1068200.

Liquido giallo chiaro. Diventa limpido al di sopra dei 26 °C.

Olio di vaselina. 1062000. [8042-47-5]. Vedere la monografia *Paraffina liquida (0239)*.

Olmio ossido. HO_2O_3 . (M_r 377,9). 1043100. [12055-62-8]. Diolmio triossido.

Polvere giallastra, praticamente insolubile in acqua.

Olmio perclorato soluzione. 1043101.

Soluzione (40 g/l) di *olmio ossido R* in una soluzione di *acido perclorico R* contenente 141 g/l di $HClO_4$.

DL-Omocisteina. $C_4H_9NO_2S$. (M_r 135,2). 1136100. [454-29-5]. Acido (2*RS*)-2-ammino-4-sulfanilbutanoico.

Polvere cristallina bianca.

p.f.: circa 232 °C.

L-Omocisteina tiolattone cloridrato. C_4H_8ClNOS . (M_r 153,6). 1136200. [31828-68-9]. (3*S*)-3-amminodiidrotiofen-2(3*H*)-one cloridrato.

Polvere cristallina, bianca.

p.f.: circa 202 °C.

Orcinolo. $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$. (M_r 142,2). 1108700. [6153-39-5]. 5-Metilbenzen-1,3-diolo monoidrato.

Polvere cristallina, sensibile alla luce.

p.e.: circa 290 °C.

p.f.: da 58 °C a 61 °C.

Oro cloruro. $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ (M_r 393,8). Idrogenotetracloroaurato.

Cristalli gialli, igroscopici, solubilissimo in acqua, solubile in alcool e in etere.

Osmio tetrossido. OsO_4 . (M_r 254,2). 1061200. [20816-12-0].

Aghi giallo chiaro o massa cristallina gialla, igroscopici, sensibili alla luce, solubili in acqua, in alcool ed in etere.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Osmio tetrossido soluzione. 1061201.

Soluzione 2,5 g/l in *acido solforico 0,05 M*.

Ossido di etilene. C_2H_4O . (M_r 44,05). 1036400. [75-21-8]. Ossirano.

Gas infiammabile, incolore, solubilissimo in acqua e in etanolo.

Punto di liquefazione: circa 12 °C.

Ossido di etilene soluzione madre. 1036401.

Tutte le operazioni necessarie per la preparazione di queste soluzioni devono essere effettuate sotto cappa.

L'operatore deve proteggersi le mani e il viso indossando guanti protettivi di polietilene ed un'ideale maschera. Conservare le soluzioni in un recipiente ermeticamente chiuso in frigorifero a 4-8 °C. Effettuare tutte le determinazioni tre volte.

In una provetta pulita e asciutta, raffreddata in una miscela di 1 parte di *sodio cloruro R* e 3 parti di ghiaccio frantumato, introdurre un basso flusso di *ossido di etilene R* gas, lasciando che si formi una condensazione sulla parete interna della provetta. Usando una siringa di vetro, precedentemente raffreddata a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, iniettare circa 300 μl (corrispondenti a circa 0,25 g) di *ossido di etilene R* liquido in 50 ml di *macrogol 200 RI*. Determinare la quantità di ossido di etilene assorbita pesando prima e dopo l'assorbimento (M_{e0}). Diluire a 100,0 ml con *macrogol 200 RI*. Mescolare bene prima dell'uso.

Determinazione quantitativa. In un recipiente adatto, a 10 ml di una sospensione (500 g/l) di *magnesio cloruro R* in *etanolo R* aggiungere 20,0 ml di *acido cloridrico alcoolico 0,1 M*. Chiudere ed agitare fino ad ottenere una soluzione satura e lasciare a riposo durante la notte per raggiungere l'equilibrio. Pesare 5,00 g di *ossido di etilene soluzione madre R* (2,5 g/l) nel recipiente e lasciare a riposo per 30 min. Titolare con *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,1 M* determinando il punto di fine titolazione potenziometricamente (2.2.20).

Effettuare una titolazione del bianco, sostituendo la sostanza in esame con la stessa quantità di *macrogol 200 RI*.

Il contenuto di ossido di etilene in milligrammi per grammo è dato da:

$$\frac{(V_0 - V_1) \times f \times 4,404}{m}$$

dove V_0 e V_1 sono i volumi di potassio idrossido soluzione alcoolica usati rispettivamente per la titolazione in bianco e per la determinazione quantitativa,

f = fattore di molarità del potassio idrossido soluzione alcoolica,

m = massa del campione prelevata (g).

Ossido di etilene soluzione madre R1. 1036406.

Una soluzione 50 mg/ml di *ossido di etilene R* in *metanolo R*.

Ossido di etilene soluzione. 1036402.

Pesare una quantità di *ossido di etilene soluzione madre R* raffreddata equivalente a 2,5 mg di ossido di etilene in un recipiente freddo e diluire a 50,0 g con *macrogol 200 RI*. Mescolare bene e diluire 2,5 g di questa soluzione a 25,0 ml con *macrogol 200 RI* (5 μg di ossido di etilene per grammo di soluzione). Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ossido di etilene soluzione R1. 1036403.

Diluire 1,0 ml di *ossido di etilene soluzione madre R* raffreddata (controllare il volume esatto per pesata) a 50,0 ml con *macrogol 200 RI*. Mescolare bene e diluire 2,5 g di questa soluzione a 25,0 ml con *macrogol 200 RI*. Calcolare la quantità esatta di ossido di etilene in ppm dal volume determinato per pesata e considerando che la densità del *macrogol 200 RI* è 1,127. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ossido di etilene soluzione R2. 1036404.

Pesare 1,00 g di *ossido di etilene soluzione madre R* fredda (equivalente a 2,5 mg di ossido di etilene) in una beuta fredda contenente 40,0 g di *macrogol 200 RI* freddo. Mescolare e determinare la massa esatta e diluire ad una massa calcolata per ottenere una soluzione contenente 50 μg di ossido di etilene per grammo di soluzione. Pesare 10,00 g in una beuta contenente circa 30 ml di *acqua R*, mescolare e diluire a 50,0 ml con *acqua R* (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ di ossido di etilene). Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ossido di etilene soluzione R3. 1036405.

Diluire 10,0 ml di *ossido di etilene soluzione R2* a 50,0 ml con *acqua R* (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ di ossido di etilene). Preparare immediatamente prima dell'uso.

Ossido di magnesio pesante. 1050000. [1309-48-4]. Vedere monografia *Magnesio ossido pesante (0041)*.

Ossido di propilene. $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$. (M_r 58,1). 1121800. [75-56-9]. Liquido incolore, miscibile con alcool.

Ossigeno. O_2 . (M_r 32,00). 1108800. Contiene non meno del 99,99 per cento V/V di O_2 .

Azoto e argon. Meno di 100 ppm.

Carbonio diossido. Meno di 10 ppm.

Carbonio monossido. Meno di 5 ppm.

Ossigeno R1. O_2 . (M_r 32,00). 1137600.

Contiene non meno del 99 per cento V/V di O_2 .

Ossitetraciclina cloridrato. 1146500.

Vedere *Ossitetraciclina cloridrato (0198)*.

Ottadecile 3-[3,5-di-(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]propionato. $\text{C}_{35}\text{H}_{62}\text{O}_3$. (M_r 530,9) 1060600. [2082-79-3]. Ottadecile 3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil)propionato.

Polvere cristallina bianca o leggermente giallastra, praticamente insolubile in acqua, solubilissima in acetone ed in esano, poco solubile in metanolo.

p.f.: da $49\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Ottanale. $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$. (M_r 128,2). 1150400. [124-13-0]. Ottil aldeide.

Liquido oleoso incolore. Praticamente insolubile in acqua.

d_4^{20} : 0,822.

n_D^{20} : 1,419.

$[\alpha]_D^{20}$: +42,7.

p.e.: 171 °C.

L'ottanale usato in gas cromatografia soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare per gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancia dolce essenza (1811)*.

Il contenuto non è inferiore al 99 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Ottanolo. $C_8H_{18}O$. (M_r 130,2). 1060700. [111-87-5]. 1-Ottanolo. Alcool caprilico.

Liquido incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,828.

p.e.: circa 195 °C.

3-Ottanone. $C_8H_{16}O$. (M_r 128,2). 1114600. [106-68-3]. Etilpentilchetone.

Liquido incolore con odore caratteristico.

d_{20}^{20} : circa 0,822.

n_D^{20} : circa 1,415.

p.e.: circa 167 °C.

Il 3-ottanone utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Lavanda essenza (1338)*.

Soluzione in esame. La sostanza da esaminare.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto.

Ottillamina. $C_8H_{19}N$. (M_r 129,2). 1150500. [111-86-4]. 1-Ottanamina.

Liquido incolore.

d_{20}^{20} : 0,782 circa.

p.e.: tra 175 °C e 179 °C.

Ottoxino 10. $C_{34}H_{62}O_{11}$ (media). (M_r 647). 1060800. [9002-93-1]. α -[4-(1,1,3,3-Tetrametilbutil)fenil]- ω -idrossipoli-(ossietilene).

Liquido viscoso, limpido, giallo pallido, miscibile con acqua, con acetone e con alcool, solubile in toluene.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Oxazepam. 1144300. [604-75-1].

Vedere la monografia *Oxazepam (0778)*.

Oxitetraciclina cloridrato. 1146500.

Vedere la monografia *Oxitetraciclina cloridrato (0198)*.

2,2'-Oxobis(N,N-dimetiletilammina). $C_8H_{20}N_2O_x$ (M_r 160,3). 1141200. [3033-62-3]. bis(2-Dimetilamminoetil)etere.

Liquido incolore, corrosivo.

d_{20}^{20} : 0,85 circa.

n_D^{20} : 1,430 circa.

Palladio. Pd. (A_r 106,4). 1114700. [7440-05-3].

Metallo bianco grigio, solubile in acido cloridrico.

Palladio cloruro. $PdCl_2$. (M_r 177,3). 1061500. [7647-10-1].

Cristalli rossi.

p.f.: da 678 °C a 680 °C.

Palladio cloruro soluzione. 1061501.

Disciogliere 1 g di *palladio cloruro R* in 10 ml di *acido cloridrico R* caldo. Diluire la soluzione a 250 ml con una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico diluito R* e *acqua R*. Immediatamente prima dell'uso diluire questa soluzione con 2 volumi di *acqua R*.

Pancreas polvere. 1061700. Vedere la monografia *Pancreas polvere (0350)*.

Papaina. 1150700. [9001-73-4].

Enzima proteolitico ottenuto dal lattice dei frutti verdi e foglie di *Carica Papaya L*.

Papaverina cloridrato. 1061800. [61-25-6]. Vedere la monografia *Papaverina cloridrato (0102)*.

Paracetamolo. 1061900. [103-90-2]. Vedere la monografia *Paracetamolo (0049)*.

Paracetamolo esente da 4-amminofenolo. 1061901.

Ricristallizzare il *paracetamolo R* da *acqua R* e secare sotto vuoto a 70 °C; ripetere il procedimento finché il prodotto soddisfa al saggio seguente: disciogliere 5 g di sostanza essiccata in una miscela di volumi uguali di *metanolo R* e di *acqua R* e diluire a 100 ml con la stessa miscela di solventi. Aggiungere 1 ml di una soluzione, preparata di recente, contenente 10 g/l di *sodio nitroprussiato R* e 10 g/l di *sodio carbonato anidro R*, mescolare e lasciare a riposo per 30 min proteggendo dalla luce. Non si sviluppa alcuna colorazione blu o verde.

Paraffina liquida. 1062000. [8042-47-5]. Vedere la monografia *Paraffina liquida (0239)*.

Paraffina bianca molle. 1062100.

Miscela semiliquida di idrocarburi ottenuta dal petrolio e sbiancata, praticamente insolubile in acqua ed in alcool, solubile in etere ed in *etere di petrolio R1*, le cui soluzioni presentano a volte una leggera opalescenza.

Paraldeide. 1151000. [123-63-7].

Vedere la monografia *Paraldeide (0351)*.

Pararosanilina cloridrato. $C_{19}H_{18}ClN_3$. (M_r 323,8). 1062200. [569-61-9]. Schultz No. 779. Colour Index No. 42500. 4-[Di(4-amminofenil)metilen]cicloesa-2,5-dieniminio cloruro.

Polvere cristallina rosso-bluastro, poco solubile in acqua, solubile in etanolo, praticamente insolubile in etere. Le soluzioni in acqua e in etanolo sono rosso scuro; le soluzioni in acido solforico ed in acido cloridrico sono gialle.

p.f.: circa 270 °C, con decomposizione.

Pararosanilina soluzione decolorata. 1062201.

In una beuta con tappo a smeriglio, a 0,1 g di *pararosanilina cloridrato R* aggiungere 60 ml di *acqua R* e una soluzione di 1,0 g di *sodio solfito anidro R* o 2,0 g di *sodio solfito R* o 0,75 g di *sodio metabisolfito R* in 10 ml di *acqua R*. Aggiungere lentamente, sotto agitazione, 6 ml di *acido cloridrico diluito R*, chiudere la beuta e continuare ad agitare fino a dissoluzione completa. Diluire a 100 ml con *acqua R*. Lasciare a riposo per 12 h prima dell'uso.

Conservare al riparo dalla luce.

Partenolide. $C_{15}H_{20}O_3$. (M_r 248,3). 1129900. [20554-84-1]. (4E)-(1aR,7aS,10aS,10bS)-1a,5-Dimetil-8-metilen-2,3,6,7,7a,8,10a,10b-ottaidro-ossireno[9,10]ciclodeca[1,2-b]furan-9(1aH)-one. (E)-(5S,6S)-4,5-Epossigermacra-1 (10), 11 (13)-diene-12(6)-lattone.

Polvere cristallina bianca, molto poco solubile in acqua, solubilissima in diclorometano, solubile in metanolo.

$[\alpha]_D^{22}$: - 71,4, determinato su una soluzione 2,2 g/l in *diclorometano R*.

p.f.: da 115 °C a 116 °C.

Assorbanza (2.2.25). Una soluzione 0,01 g/l in *alcool R* mostra un massimo di assorbimento a 214 nm.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29), come prescritto nella monografia *Tanaceto* (1516), alla concentrazione della soluzione di riferimento. Il contenuto di partenolide non è inferiore al 90 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Penicillasi soluzione. 1062300.

Disciogliere 10 g di caseina idrolizzata, 2,72 g di *potassio fosfato monobasico R* e 5,88 g di *sodio citrato R* in 200 ml di *acqua R*, portare il pH a 7,2 con una soluzione (200 g/l) di *sodio idrossido R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*. Disciogliere 0,41 g di *magnesio solfato R* in 5 ml di *acqua R* e aggiungere 1 ml di una soluzione (1,6 g/l) di *ferro(-oso) ammonico solfato R* e *acqua R* fino a 10 ml. Sterilizzare entrambe le soluzioni per riscaldamento in autoclave, raffreddare, mescolare,

distribuirle in strati sottili in beute ed inoculare con *Bacillus cereus* (NCTC 9946). Lasciare a riposo le beute tra 18 °C e 37 °C finché la crescita risulti evidente e poi mantenere a 35-37 °C per 16 h, agitando costantemente per assicurare la massima areazione. Centrifugare e sterilizzare il liquido soprannatante per filtrazione su un filtro a membrana. 1,0 ml di penicillasi soluzione contiene non meno di 0,4 microkatal (corrispondenti all'idrolisi di non meno di 500 mg di benzilpenicillina ad acido benzilpenicilloico per ora) a 30 °C e a pH 7, purché la concentrazione di benzilpenicillina non scenda al di sotto del livello necessario per la saturazione enzimatica.

La costante di Michaelis per la benzilpenicillina della penicillasi nella penicillasi soluzione è approssimativamente 12 g per millilitro.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa al saggio di sterilità.

Conservare a una temperatura compresa tra 0 °C e 2 °C ed utilizzare entro 2-3 giorni. Se liofilizzata e mantenuta in fiale sigillate, si conserva per diversi mesi.

Pentaeritritile tetrakis[3-3,5-di(1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]propionato. $C_{73}H_{108}O_{12}$. (M_r 1178). 1062400. [6683-19-8]. Pentaeritritile tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butil-4-idrossifenil)propionato]. 2,2'-bis (Idrossimetil) propan-1,3-diol tetrakis [3-[3,5-di (1,1-dimetiletil)-4-idrossifenil]]propionato.

Polvere cristallina da bianca a giallo chiaro, praticamente insolubile in acqua, solubilissima in acetone, solubile in metanolo, poco solubile in esano.

p.f.: da 110 °C a 125 °C.

Forma α : da 120 °C a 125 °C.

Forma β : da 110 °C a 115 °C.

Pentano. C_5H_{12} . (M_r 72,2). 1062500. [109-66-0].

Liquido infiammabile, limpido, incolore, molto poco solubile in acqua, miscibile con acetone, con etanolo e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,63.

n_D^{20} : circa 1,359.

p.e.: circa 36 °C.

Il pentano utilizzato in spettrofotometria soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25), determinata usando *acqua R* come bianco:

20 per cento a 200 nm,

50 per cento a 210 nm,

85 per cento a 220 nm,

93 per cento a 230 nm,

98 per cento a 240 nm.

Pentanolio. $C_5H_{12}O$. (M_r 88,1). 1062600. [71-41-0]. 1-Pentanolio. Alcool amilico normale.

Liquido incolore, moderatamente solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

n_D^{20} : circa 1,410.

p.e.: circa 137 °C.

Pepsina polvere. 1062800. [9001-75-6]. Vedere la monografia *Pepsina polvere* (0682).

Perilene. C₂₀H₁₂. (M_r 252,3). 1130100. [198-55-0]. Dibenzo-(de,kl)antracene.

Polvere arancione.

p.f.: circa 279 °C.

Permetrina. C₂₁H₂₀Cl₂O₃. (M_r 391,3). 1130000. [52645-53-1].

p.f.: da 34 °C a 35 °C.

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Piastrinico sostituto. Vedere *sostituto piastrinico R*.

Piceina. C₁₄H₁₈O₇. (M_r 298,3). 1130700. [530-14-3]. 1-[4-(β-D-Glucopiranosilossi)fenil]etanone. *p*-(Acetilfenil)-β-D-glucopiranoside.

p.f.: da 194 °C a 195 °C.

α-Pinene. C₁₀H₁₆. (M_r 136,2). 1130800. [7785-70-8]. (1*R*,5*R*)-2,6,6-Trimetilbicyclo[3.1.1]ept-2-ene.

Liquido immiscibile con acqua.

d_{20}^{20} : circa 0,859.

n_D^{20} : circa 1,466.

p.e.: da 154 °C a 156 °C.

L'α-pinene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza* (1175) usando la sostanza da esaminare come soluzione in esame. L'area del picco principale non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

β-Pinene. C₁₀H₁₆. (M_r 136,2). 1109000. [18172-67-3]. 6,6-Dimetil-2-metilenbicyclo[3.1.1]eptano.

Liquido oleoso incolore, con un odore simile alla trementina, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,867.

n_D^{20} : circa 1,474.

p.e.: da 164 °C a 166 °C.

Il β-pinene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza* (1175), usando la

sostanza da esaminare come soluzione in esame. L'area del picco principale non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Piombo acetato. C₄H₆O₄Pb.3H₂O. (M_r 379,3). 1048100. [6080-56-4]. Piombo diacetato triidrato.

Cristalli incolori, efflorescenti, molto solubili in acqua, solubili in alcool.

Piombo acetato cartina. 1048102.

Immergere la carta da filtro, del peso di circa 80 g per metro quadrato, in una miscela di 1 volume di *acido acetico diluito R* e 10 volumi di *piombo acetato soluzione R*. Dopo aver asciugato la carta, tagliarla in strisce di 15 mm × 40 mm.

Piombo acetato cotone. 1048101.

Immergere il cotone assorbente in una miscela di 1 volume di *acido acetico diluito R* e 10 volumi di *piombo acetato soluzione R*. Eliminare l'eccesso di liquido, senza strizzare il cotone, ponendolo su parecchi strati di carta da filtro. Lasciar asciugare all'aria.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Piombo acetato soluzione. 1048103.

Soluzione 95 g/l in *acqua esente da anidride carbonica R*.

Piombo diossido. PbO₂. (M_r 239,2). 1048200. [1309-60-0].

Polvere marrone scuro, che sviluppa ossigeno se riscaldata, praticamente insolubile in acqua, solubile in acido cloridrico con sviluppo di cloro, solubile in acido nitrico diluito in presenza di idrogeno perossido, di acido ossalico o di altri agenti riducenti, solubile nelle soluzioni concentrate calde di idrossidi alcalini.

Piombo nitrato. Pb(NO₃)₂. (M_r 331,2). 1048300. [10099-74-8]. Piombo dinitrato.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, molto solubili in acqua.

Piombo nitrato soluzione. 1048301.

Soluzione 33 g/l.

Piombo sottoacetato soluzione. 1048400. [1335-32-6].

Contiene non meno del 16,7 per cento *m/m* e non più del 17,4 per cento *m/m* di Pb (A_r 207,2) in una forma corrispondente approssimativamente alla formula C₈H₁₄O₁₀Pb₃.

Disciogliere 40,0 g di *piombo acetato R* in 90 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Portare il pH a 7,5 con *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Centrifugare ed usare la soluzione soprannatante limpida e incolore.

La soluzione rimane limpida se conservata in un recipiente ben chiuso.

Piperazina idrata. 1065900. [142-63-2]. Vedere la monografia *Piperazina idrata* (0425).

Piperidina. C₅H₁₁N. (M_r 85,2). 1066000. [110-89-4]. Esaidropiridina.

Liquido alcalino da incolore a leggermente giallo, miscibile con acqua, con alcool, con etere e con etere di petrolio.

p.e.: circa 106 °C.

2-Piridilammia. C₅H₆N₂. (M_r 94,1). 1073400. [504-29-0]. 2-Amminopiridina.

Cristalli grandi solubili in acqua, in alcool ed in etere.

p.e. : circa 210 °C.

p.f.: circa 58 °C.

Piridilazonaftolo. C₁₅H₁₁N₃O. (M_r 249,3). 1073500. [85-85-8]. 1-(2-Piridilazo)-2-naftolo.

Polvere rosso mattone, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool, in metanolo e nelle soluzioni alcaline diluite calde.

p.f.: circa 138 °C.

Piridilazonaftolo soluzione. 1073501.

Soluzione 1 g/l in *etanolo R*.

Saggio di sensibilità. A 50 ml di *acqua R* aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,4 R*, 0,10 ml di *sodio edetato 0,02 M* e 0,25 ml di *piridilazonaftolo soluzione*. Dopo aggiunta di 0,15 ml di una soluzione (5 g/l) di *rame(-ico) solfato R*, la colorazione vira dal giallo chiaro al violetto.

4-(2-Piridilazo)resorcinolo sale monosodico.

C₁₁H₈N₃NaO₂·H₂O. (M_r 255,2). 1131500. [16593-81-0].

Polvere cristallina arancione.

Piridina. C₅H₅N. (M_r 79,1). 1073200. [110-86-1].

Liquido incolore, limpido, igroscopico, miscibile con acqua e con alcool.

p.e.: circa 115 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Piridina anidra. 1073300. [110-86-1].

Seccare la *piridina R* su *sodio carbonato anidro R*. Filtrare e distillare.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,01 per cento *m/m*.

Pirimifos-etile. C₁₃H₂₄N₃O₃PS. (M_r 333,4). 1130300. [23505-41-1].

p.f.: da 15 °C a 18 °C.

Può essere utilizzazione un'ideonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Pirotechina. Vedere *pirotecolo R*.

Pirotecolo. C₆H₆O₂. (M_r 110,1). 1073600. [120-80-9]. Benzen-1,2-diolo.

Cristalli incolori o leggermente gialli, solubili in acqua, in acetone, in alcool ed in etere.

p.f.: circa 102 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Pirogallolo. C₆H₆O₃. (M_r 126,1). 1073700. [87-66-1]. Benzen-1,2,3-triolo.

Cristalli bianchi che diventano brunastri per esposizione all'aria e alla luce, solubilissimi in acqua, in alcool ed in etere, poco solubili in carbonio solfuro. Le soluzioni acquose, e più rapidamente le soluzioni alcaline, per esposizione all'aria diventano brune a causa dell'assorbimento di ossigeno.

p.f.: circa 131 °C.

Conservare al riparo dalla luce.

Pirogallolo soluzione alcalina. 1073701.

Disciogliere 0,5 g di *pirogallolo R* in 2 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Disciogliere 12 g di *potassio idrossido R* in 8 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Mescolare le due soluzioni immediatamente prima dell'uso.

2-Pirrolidone. C₄H₇NO. (M_r 85,1). 1138000. [616-45-5]. 2-Pirrolidinone. Tetrametilendiammina.

Liquido a temperatura superiore a 25 °C, miscibile con acqua, con etanolo e con etile acetato.

*d*₄²⁵: circa 1,116.

Plasma di coniglio citratato. 1020900.

Prelevare il sangue con un'iniezione intracardica da un coniglio lasciato a digiuno per 12 h, utilizzando una siringa di plastica con un ago No. 1 contenente un idoneo volume di una soluzione (38 g/l) di *sodio citrato R* in modo che il rapporto tra il volume finale della soluzione citrica e del sangue sia 1 : 9. Separare il plasma per centrifugazione a 1500-1800 g, a 15-20 °C, per 30 min.

Conservare a 0-6 °C.

Utilizzare entro 4 h dalla raccolta.

Plasma povero in piastrine. 1066100.

Aspirare 45 ml di sangue umano in una siringa di plastica da 50 ml contenente 5 ml di una soluzione sterile (38 g/l) di *sodio citrato R*. Centrifugare subito a 1500 g a 4 °C per 30 min. Eliminare i due terzi superiori del plasma sopranatante utilizzando una siringa di plastica e centrifugare subito a 3500 g a 4 °C per 30 min. Eliminare i due terzi superiori del liquido e congelare rapidamente, in quantità idonee, in tubi di plastica a una temperatura pari o inferiore a -40 °C. Utilizzare apparecchiature in materiale plastico o trattate con silicone.

Plasma substrato. 1066200.

Separare il plasma dal sangue umano o bovino raccogliendolo in una soluzione (38 g/l) di *sodio citrato R*

pari a un nono del suo volume, o in una soluzione contenente 20 g/l di *sodio citrato acido R* e 25 g/l di *glucosio R* pari a due settimi del suo volume. Nel primo caso preparare il substrato il giorno della raccolta del sangue, nel secondo, prepararlo entro due giorni dalla raccolta del sangue.

Conservare a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Plasma substrato R1. 1066201.

Utilizzare attrezzature idrorepellenti (fatte di materiali come plastiche idonee o di vetro appropriatamente trattato con silicone) per prelevare e maneggiare il sangue.

Raccogliere un volume idoneo di sangue da almeno cinque pecore; 285 ml di sangue raccolti in 15 ml di soluzione anticoagulante rappresentano un volume idoneo, ma possono essere raccolti volumi inferiori prelevando il sangue sia da animali vivi che al momento della macellazione, utilizzando un ago attaccato ad un'appropriata cannula abbastanza lunga da raggiungere il fondo del recipiente di raccolta. Scartando i primi millilitri e raccogliendo solo il sangue che fluisce liberamente, raccogliere il sangue in una quantità di soluzione anticoagulante contenente 8,7 g/l di *sodio citrato R* e 4 mg di *aprotinina R* per 100 ml di *acqua R*, sufficiente a far sì che il rapporto finale tra il sangue e la soluzione anticoagulante sia di 19 a 1. Durante e immediatamente dopo la raccolta far ruotare leggermente il recipiente per assicurare il mescolamento ma non far schiumeggiare. Quando la raccolta è completa chiudere il recipiente e raffreddare a $10-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. A raffreddamento avvenuto riunire il contenuto di tutti i recipienti, ad eccezione di quelli che dovessero mostrare un'evidente emolisi o dei coaguli, e mantenere il sangue, riunito, a $10-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Centrifugare, al più presto possibile ed entro 4 h dalla raccolta, il sangue riunito a $1000-2000\text{ g}$ a $10-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 30 min. Separare il liquido soprannatante e centrifugare a 5000 g per 30 min. (Una centrifugazione più rapida, per esempio a 20000 g per 30 min, potrebbe essere necessaria per chiarificare il plasma, ma non devono essere usate procedure di filtrazione). Separare il liquido soprannatante e, subito dopo, mescolare bene e distribuire il plasma substrato in piccoli contenitori muniti di tappo, in porzioni sufficienti ad effettuare il saggio per l'eparina (per esempio 10-30 ml). Subito dopo raffreddare rapidamente a una temperatura inferiore a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (per esempio immergendo i contenitori in azoto liquido) e conservare a una temperatura inferiore a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Il plasma è idoneo per essere usato come plasma substrato nel saggio dell'eparina se, nelle condi-

zioni del saggio, dà un tempo di coagulazione appropriato al metodo di rivelazione usato e se fornisce ripide curve logaritmiche dose-effetto riproducibili.

Quando richiesto per l'uso, scongelare una porzione del plasma substrato in un b.m. a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, ruotando leggermente fino a scongelamento completo; una volta scongelato dovrebbe essere mantenuto a $10-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e usato immediatamente. Il plasma scongelato può essere blandamente centrifugato, se necessario; non devono essere usate procedure di filtrazione.

Plasma substrato R2. 1066202.

Preparare da sangue umano contenente meno dell'1 per cento del normale tasso di fattore IX. Raccogliere il sangue in una soluzione (38 g/l) di *sodio citrato R* in quantità pari a un nono del suo volume.

Conservare in piccoli quantitativi in tubi di plastica a una temperatura di $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferiore.

Plasma substrato R3. 1066203.

Preparare da sangue umano contenente meno dell'1 per cento del normale tasso di fattore XI. Raccogliere il sangue in una soluzione (38 g/l) di *sodio citrato R* in quantità pari a un nono del suo volume.

Conservare in piccoli quantitativi in tubi di plastica a una temperatura di $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferiore.

Plasma substrato privo di fattore V. 1066300.

Utilizzare preferibilmente plasma che ne è privo congelatamente, o prepararlo come segue: separare il plasma dal sangue umano raccolto in una soluzione (13,4 g/l) di *sodio ossalato R* pari a un decimo del suo volume. Incubare a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 24-36 h. Il tempo di coagulazione determinato con il metodo descritto per il *fattore V di coagulazione del sangue soluzione R* dovrebbe essere 70-100 s. Se il tempo di coagulazione è inferiore a 70 s, incubare nuovamente per 12-24 h.

Conservare in piccole porzioni a una temperatura di $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferiore.

Plasminogeno umano. 1109100. [9001-91-6].

Una sostanza presente nel sangue che può essere attivata dalla plasmina, un enzima che provoca l'idrolisi della fibrina nei coaguli di sangue.

Pol[(cianopropil)(fenil)][dimetil]silossano. 1114800.

Fase stazionaria per gas cromatografia. Contiene il 6 per cento di gruppi (cianopropil)(fenil) e il 94 per cento di gruppi dimetilici.

Poli(cianopropil)(fenilmetil)silossano. 1066600.

Contiene il 90 per cento di gruppi cianopropilici e il 10 per cento di gruppi fenilmetilici.

Fase stazionaria per gas cromatografia.

Poli(cianopropil)(metil) [(fenil)(metil)]silossano.
1066500.

Contiene il 25 per cento di gruppi cianopropilici, il 25 per cento di gruppi fenilici e il 50 per cento di gruppi metilici. (La massa molecolare relativa media è 8000).

Liquido molto viscoso (viscosità di circa 9000 mPa·s).

d_{25}^{25} : circa 1,10.

n_D^{25} : circa 1,502.

Poli(cianopropil)metilfenil]metilsilossano Vedere *poli [(cianopropil) (metil)] [(fenil) (metil)] silossano R*.

Poli(cianopropil)(7)(fenil)(7)(metil)(86)silossano.
1109200.

Polisilossano sostituito con il 7 per cento di gruppi cianopropilici, il 7 per cento di gruppi fenilici e l'86 per cento di gruppi dimetilici.

Fase stazionaria per gas cromatografia.

Poli(cianopropil)silossano. 1066700

Polisilossano sostituito con il 100 per cento di gruppi cianopropilici.

Poli(dimetil)(difenil)(divinil)silossano. 1100000.

Contiene il 94 per cento di gruppi metilici, il 5 per cento di gruppi fenilici e l'1 per cento di gruppi vinilici. SE54.

Fase stazionaria per gas cromatografia.

Poli(dimetil)(difenil)silossano. 1066900.

Contiene il 95 per cento di gruppi metilici e il 5 per cento di gruppi fenilici, DB-5, SE52.

Fase stazionaria per gas cromatografia.

Polidimetilsilossano. 1066800.

Colla gommosa siliconica (metile). Polimero organosiliconico con l'aspetto di una gomma incolore, semiliquida.

La viscosità intrinseca, determinata come segue è circa 115 ml·g⁻¹. Pesare, approssimando al decimo di mg, 1,5 g, 1 g e 0,3 g della sostanza in esame, in palloni tarati da 100 ml. Aggiungere 40-50 ml di *toluene R*, agitare fino a completa dissoluzione della sostanza e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Determinare la viscosità (2.2.9) di ciascuna soluzione. Determinare la viscosità del *toluene R* nelle stesse condizioni. Ridurre la concentrazione di ciascuna soluzione a metà diluendo con *toluene R*. Determinare la viscosità di queste soluzioni.

c = concentrazione in grammi per 100 ml,

t_1 = tempo di scorrimento della soluzione in esame,

t_2 = tempo di scorrimento del toluene,

η_1 = viscosità della soluzione in esame in millipascal secondi,

η_2 = viscosità del toluene in millipascal secondi,

d_1 = densità relativa della soluzione in esame,

d_2 = densità relativa del toluene.

Per ottenere le densità relative usare i seguenti dati:

Concentrazione (grammi per 100 ml)	Densità relativa (d_t)
0-0,5	1,000
0,5-1,25	1,001
1,25-2,20	1,002
2,20-2,75	1,003
2,75-3,20	1,004
3,20-3,75	1,005
3,75-4,50	1,006

La viscosità specifica si ottiene dall'equazione:

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_1 - \eta_2}{\eta_2} = \frac{t_1 d_1}{t_2 d_2} - 1$$

e la viscosità ridotta da:

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c}$$

La viscosità intrinseca (η) è ottenuta per estrapolazione dall'equazione precedente a $c = 0$. Ciò si fa disegnando la curva di η_{sp}/c o $\log \eta_{sp}/c$ in funzione di c . L'extrapolazione a $c = 0$ dà η . La viscosità intrinseca è espressa in millilitri per grammo; il valore ottenuto deve perciò essere moltiplicato per 100.

Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24). Deposare la sostanza, dispersa, se necessario, in qualche goccia di *carbonio tetracloruro R*, su una lamina di sodio cloruro. Lo spettro ottenuto non presenta l'assorbimento a 3053 cm⁻¹ corrispondente ai gruppi vinilici.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 2,0 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento sotto vuoto a 350 °C per 15 min. Non superiore allo 0,8 per cento, determinata su 2,000 g per essiccamento a 200 °C per 2 h.

Polietilenglicole. Vedere *macrogol R*.

Polietilenglicole adipato. (C₈H₁₂O₄)_n. (M_r (172,2)_n). 1067700.

Massa cerosa bianca o quasi bianca, praticamente insolubile in acqua.

p.f.: circa 43 °C.

Polietilenglicole succinato. (C₆H₈O₄)_n. (M_r (144,1)_n). 1067800.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, praticamente insolubile in acqua.

p.f.: circa 102 °C.

Polimero organosilicico, amorfo, ottadecilsilil. 1144200.

Particelle sferiche ibride sintetiche, contenenti sia componenti inorganici (silice) sia organici (organosilossani), chimicamente modificati per inserimento trifunzionale in superficie di gruppi ottadecilsilil.

Polimero organosilicico, amorfo, ottadecilsilil polare-intercalato, disattivato. 1150600.

Particelle sferiche, ibride, sintetiche contenenti sia componenti inorganici (silice) sia organici (organosilossani), chimicamente modificati per inserimento trifunzionale in superficie di gruppi ottadecilsilil con gruppo polare intercalato.

Per minimizzare qualsiasi interazione con composti basici, è opportuno disattivare coprendo accuratamente la maggior parte dei rimanenti gruppi silanolicici. La dimensione delle particelle è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è usata.

Polimetilfenilsilossano. 1067900.

Contiene il 50 per cento di gruppi metilici e il 50 per cento di gruppi fenilici. (Massa molecolare relativa media pari a 4000).

Liquido molto viscoso (viscosità di circa 1300 mPa·s). Fase stazionaria per gas cromatografia.

d_{25}^{25} : circa 1,09.

n_D^{25} : circa 1,540.

Polimetil(95)fenil(5)silossano. 1068000. Vedere *poli(dimetil) (difetil) silossano R*.

Polimetil(94)fenil(5)vinil(1)silossano. 1068100. Vedere *poli(dimetil) (difetil) (divinil) silossano R*.

Polisorbato 20. 1068300. [9005-64-5]. Vedere la monografia *Polisorbato 20 (0426)*.

Polisorbato 80. 1068400. [9005-65-6]. Vedere la monografia *Polisorbato 80 (0428)*.

Polistirene 900-1000. 1112200. [9003-53-6].

Standard organico usato per la taratura in gas cromatografia.

M_w : circa 950.

M_w/M_n : circa 1,10.

Polvere di pancreas. Vedere *pancreas polvere R*.

Porpora m-cresolo. $C_{21}H_{18}O_5S$. (M_r 382,44). 1121700. [2303-01-7]. *m-Cresolsolfonftaleina*.

Polvere cristallina verde oliva, leggermente solubile in acqua, solubile in alcool, in acido acetico glaciale e in metanolo.

Porpora m-cresolo soluzione. 1121701.

Disciogliere 0,1 g di *porpora m-cresolo R* in 13 ml di *sodio idrossido 0,01 M*, diluire a 100 ml con *acqua R* e mescolare.

Viraggio. Da pH 1,2 (rosso) a pH 2,8 (giallo); da pH 7,4 (giallo) a pH 9,0 (porpora).

Potassio-antimonio tartrato. $C_4H_4KO_7Sb \cdot \frac{1}{2}H_2O$. (M_r 333,9) 1007600. Potassio [tartrato(4-) O^1, O^2, O^3]antimoniato(III) emiidrato.

Polvere granulare bianca o incolore, o cristalli trasparenti, solubili in acqua e in glicerolo, molto solubili in acqua bollente, praticamente insolubili in alcool. La soluzione acquosa è leggermente acida.

Potassio bicarbonato. $KHCO_3$. (M_r 100,1). 1069900. [298-14-6]. Potassio idrogeno carbonato.

Cristalli incolori, trasparenti, molto solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Potassio bicarbonato soluzione metanolica satura. 1069901.

Disciogliere 0,1 g di *potassio bicarbonato R* in 0,4 ml di *acqua R*, scaldando a b.m. Aggiungere 25 ml di *metanolo R* e agitare, mantenendo la soluzione a b.m. fino a dissoluzione completa. Usare una soluzione preparata di recente.

Potassio bromato. $KBrO_3$. (M_r 167,0). 1068700. [7758-01-2].

Polvere granulare bianca o cristalli, solubili in acqua, poco solubili in alcool.

Potassio bromuro. 1068800. [7758-02-3]. Vedere la monografia *Potassio bromuro (0184)*.

Il potassio bromuro usato per spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) soddisfa anche all'ulteriore requisito seguente:

Una pasticca, dello spessore di 2 mm, preparata con la sostanza precedentemente essiccata a 250 °C per 1 h, ha una linea di base sostanzialmente piatta nell'intervallo compreso tra 4000 cm^{-1} e 620 cm^{-1} . Non presenta massimi con un'assorbanza superiore a 0,02 al di sopra della linea di base, ad eccezione dei massimi dell'acqua a 3440 cm^{-1} e a 1630 cm^{-1} .

Potassio carbonato. K_2CO_3 . (M_r 138,2). 1068900. [584-08-7]. Dipotassio carbonato.

Polvere granulare bianca, igroscopica, solubilissima in acqua, praticamente insolubile in etanolo.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Potassio cianuro. KCN. (M_r 65,1) 1069400. [151-50-8].

Polvere cristallina bianca o masse bianche o granuli, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool.

Potassio cianuro soluzione. 1069401.

Soluzione 100 g/l.

Potassio cianuro soluzione esente da piombo. 1069402.

Disciogliere 10 g di *potassio cianuro R* in 90 ml di *acqua R*, aggiungere 2 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R* diluita 1 a 5. Lasciare a riposo per 24 h, diluire a 100 ml con *acqua R* e filtrare.

La soluzione soddisfa al seguente saggio: prelevare 10 ml di soluzione, aggiungere 10 ml di *acqua R* e 10 ml di *idrogeno solfuro soluzione R*. Non si sviluppa alcuna colorazione anche dopo l'aggiunta di 5 ml di *acido cloridrico diluito R*.

Potassio citrato. 1069300. [6100-05-6]. Vedere la monografia *Potassio citrato (0400)*.

Potassio clorato. $KClO_3$. (M_r 122,6). 1069000. [3811-04-9].

Polvere bianca, granuli o cristalli, solubili in acqua.

Potassio cloruro. 1069100. [7447-40-7]. Vedere la monografia *Potassio cloruro* (0185).

Il potassio cloruro usato per spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) soddisfa anche all'ulteriore requisito seguente:

Una pasticca, dello spessore di 2 mm, preparata con la sostanza precedentemente essiccata a 250 °C per 1 h, ha una linea di base sostanzialmente piatta nell'intervallo compreso tra 4000 cm⁻¹ e 620 cm⁻¹. Non presenta massimi con un'assorbanza superiore a 0,02 al di sopra della linea di base, ad eccezione dei massimi dell'acqua a 3440 cm⁻¹ e a 1630 cm⁻¹.

Potassio cloruro soluzione 0,1 M. 1069101.

Soluzione di *potassio cloruro R* contenente l'equivalente di 7,46 g di KCl in 1000,0 ml.

Potassio cromato K₂CrO₄. (M_r 194,2). 1069200. [7789-00-6]. Dipotassio cromato.

Cristalli gialli, molto solubili in acqua.

Potassio cromato soluzione. 1069201.

Soluzione 50 g/l.

Potassio dicromato. K₂Cr₂O₇. (M_r 294,2). 1069500. [7778-50-9]. Dipotassio dicromato.

Il potassio dicromato utilizzato per la calibrazione degli spettrofotometri (2.2.25) contiene non meno del 99,9 per cento di K₂Cr₂O₇, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata a 130 °C.

Cristalli rosso-arancione, solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 1,000 g in acqua *R* e diluire a 250,0 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 50,0 ml di questa soluzione a una soluzione, preparata di recente, di 4 g di *potassio ioduro R*, 2 g di *sodio bicarbonato R* e 6 ml di *acido cloridrico R* in 100 ml di acqua *R*, in un recipiente da 500 ml. Chiudere il recipiente e lasciare a riposo proteggendo dalla luce per 5 min. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, utilizzando come indicatore 1 ml di *amido esente da ioduro soluzione R*.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 4,903 mg di K₂Cr₂O₇.

Potassio dicromato soluzione. 1069501.

Soluzione 106 g/l.

Potassio dicromato soluzione R1. 1069502.

Soluzione 5 g/l.

Potassio ferricianuro. K₃[Fe(CN)₆]. (M_r 329,3). 1069700. [13746-66-2]. Potassio esacianoferrato (III).

Cristalli rossi, molto solubili in acqua.

Potassio ferricianuro soluzione. 1069701.

Lavare 5 g di *potassio ferricianuro R* con un pò di acqua *R*, disciogliere e diluire a 100 ml con acqua *R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Potassio ferriperiodato soluzione. Vedere *potassio periodato R*.

Potassio ferrocianuro. K₄[Fe(CN)₆].3H₂O. (M_r 422,4). 1069800. [14459-95-1]. Potassio esacianoferrato (II).

Cristalli gialli trasparenti, molto solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Potassio ferrocianuro soluzione. 1069801.

Soluzione 53 g/l.

Potassio fluoruro. KF. (M_r 58,1). 1137800. [7789-23-3].

Cristalli incolori o polvere cristallina bianca, deliquescente, solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool.

Potassio fosfato bibasico: Vedere *potassio fosfato dibasico R*.

Potassio fosfato dibasico. K₂HPO₄. (M_r 174,2). 1033000. [7758-11-4].

Polvere cristallina bianca, igroscopica, solubilissima in acqua, poco solubile in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Potassio fosfato dibasico triidrato. K₂HPO₄. 3H₂O (M_r 228,2). 1157600. [16788-57-1].

Polvere o cristalli incolori o bianchi o quasi bianchi, molto solubili in acqua.

Potassio fosfato monobasico. 1069600. [7778-77-0]. Vedere la monografia *Potassio fosfato monobasico* (0920).

Potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M. 1069601.

Soluzione di *potassio fosfato monobasico R* contenente l'equivalente di 27,22 g di KH₂PO₄ in 1000,0 ml.

Potassio ftalato acido. C₈H₅KO₄. (M_r 204,2). 1070000. [877-24-7]. Potassio idrogeno benzen-1,2-dicarbossilato.

Cristalli bianchi, solubili in acqua, poco solubili in alcool.

Potassio ftalato acido soluzione 0,2 M. 1070001.

Soluzione di *potassio ftalato acido R* contenente l'equivalente di 40,84 g di C₈H₅KO₄ in 1000,0 ml.

Potassio idrogeno carbonato. Vedere *Potassio bicarbonato R*.

Potassio idrogeno solfato. KHSO₄. (M_r 136,2). 1070100. [7646-93-7]. Potassio bisolfato.

Cristalli igroscopici, trasparenti, incolori, molto solubili in acqua dando luogo ad una soluzione fortemente acida.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Potassio idrogeno tartrato. Vedere *Potassio tartrato acido R*.

Potassio idrossido. 1070300. [1310-58-3]. Vedere la monografia *Potassio idrossido* (0840).

Potassio idrossido 0,5 M in alcool al 10 per cento V/V. 1070302.

Disciogliere 28 g di *potassio idrossido R* in 100 ml di *alcool R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Potassio idrossido soluzione alcoolica. 1070303.

Disciogliere 3 g di *potassio idrossido R* in 5 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con *alcool esente da aldeide R*. Decantare la soluzione limpida. La soluzione dovrebbe essere quasi incolore.

Potassio idrossido soluzione alcoolica R1. 1070304.

Disciogliere 6,6 g di *potassio idrossido R* in 50 ml di *acqua R* e diluire a 1000 ml con *etanolo R*.

Potassio idrossido soluzione alcoolica 2 M. 1070301.

Disciogliere 12 g di *potassio idrossido R* in 10 ml di *acqua R* e diluire a 100 ml con *alcool R*.

Potassio idrossido soluzione metanolica R.

Soluzione (30 g/l) di *potassio idrossido R* in *metanolo R*.

Potassio iodato. KIO_3 . (M_r 214,0). 1070400. [7758-05-6].

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua.

Potassio iodobismutato soluzione. 1070600.

A 0,85 g di *bismuto sottonitrato R* aggiungere 40 ml di *acqua R*, 10 ml di *acido acetico glaciale R* e 20 ml di una soluzione (400 g/l) di *potassio ioduro R*.

Potassio iodobismutato soluzione R1. 1070601.

Disciogliere 100 g di *acido tartarico R* in 400 ml di *acqua R* e aggiungere 8,5 g di *bismuto sottonitrato R*. Agitare per 1 h, aggiungere 200 ml di una soluzione (400 g/l) di *potassio ioduro R* ed agitare bene. Lasciare a riposo per 24 h e filtrare.

Conservare al riparo dalla luce.

Potassio iodobismutato soluzione R2. 1070602.

Soluzione madre. Sospendere 1,7 g di *bismuto sottonitrato R* e 20 g di *acido tartarico R* in 40 ml di *acqua R*. Alla sospensione aggiungere 40 ml di una soluzione (400 g/l) di *potassio ioduro R* e agitare per 1 h. Filtrare. La soluzione può essere conservata per alcuni giorni in bottiglie scure.

Soluzione per spruzzare. Mescolare immediatamente prima dell'uso 5 ml della soluzione madre con 15 ml di *acqua R*.

Potassio iodobismutato soluzione R3. 1070604.

Disciogliere 0,17 g di *bismuto sottonitrato R* in una miscela di 2 ml di *acido acetico glaciale R* e 18 ml di *acqua R*. Aggiungere 4 g di *potassio ioduro R*, 1 g di *iodio R* e diluire a 100 ml con *acido solforico diluito R*.

Potassio iodobismutato soluzione R4. 1070605.

Disciogliere 1,7 g di *bismuto sottonitrato R* in 20 ml di *acido acetico glaciale R*. Aggiungere 80 ml di *acqua distillata R*, 100 ml di una soluzione 400 g/l di *potassio ioduro R*, 200 ml di *acido acetico glaciale R* e diluire a 1000 ml con *acqua distillata R*. Mescolare 2 volumi di questa soluzione con 1 volume di una soluzione (200 g/l) di *bario cloruro R*.

Potassio iodobismutato soluzione diluita. 1070603.

Disciogliere 100 g di *acido tartarico R* in 500 ml di *acqua R* ed aggiungere 50 ml di *potassio iodobismutato soluzione R1*.

Conservare al riparo dalla luce.

Potassio iodomercurato soluzione. Reattivo di Mayer, Mercurio e potassio ioduro soluzione neutra. Vedere *potassio tetraiodomercurato soluzione R*.

Potassio iodomercurato soluzione alcalina. Reattivo di Nessler, Mercurio potassico ioduro soluzione alcalina. Vedere *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*.

Potassio ioduro. 1070500. [7681-11-0]. Vedere la monografia *Potassio ioduro (0186)*.

Potassio ioduro soluzione. 1070502.

Soluzione 166 g/l.

Potassio ioduro e amido soluzione. 1070501.

Disciogliere 0,75 g di *potassio ioduro R* in 100 ml di *acqua R*. Scaldare all'ebollizione ed aggiungere sotto agitazione una soluzione di 0,5 g di *amido solubile R* in 35 ml di *acqua R*. Bollire per 2 min e lasciar raffreddare.

Saggio di sensibilità. Una miscela di 15 ml di potassio ioduro e amido soluzione, 0,05 ml di *acido acetico glaciale R* e 0,3 ml di *iodio soluzione R2* è blu.

Potassio ioduro e iodio soluzione. 1070503.

Disciogliere 2 g di *iodio R* e 4 g di *potassio ioduro R* in 10 ml di *acqua R*. Quando la solubilizzazione è completa diluire a 100 ml con *acqua R*.

Potassio ioduro soluzione satura. 1070504.

Soluzione satura di *potassio ioduro R* in *acqua esente da anidride carbonica R*. Assicurarsi che la soluzione rimanga satura come indicato dalla presenza di cristalli non disciolti.

Verificare il reattivo aggiungendo a 0,5 ml della soluzione satura di potassio ioduro 30 ml di una miscela di 2 volumi di *cloroformio R* e 3 volumi di *acido acetico R* e poi 0,1 ml di *amido soluzione R*. Una colorazione blu, eventualmente formatasi, scompare per aggiunta di 0,05 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*.

Conservare al riparo dalla luce.

Potassio ioduro e sodio bicarbonato soluzione.

Disciogliere 75 g di *potassio ioduro R* e 50 g di *sodio bicarbonato R* in *acqua R* e diluire a 1000 ml.

Potassio nitrato. KNO_3 . (M_r 101,1). 1070700. [7757-79-1].

Cristalli incolori, solubilissimi in acqua.

Potassio periodato. KIO_4 . (M_r 230,0). 1070800. [7790-21-8]. Potassio metaperiodato.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, solubili in acqua.

Potassio ferriperiodato soluzione. 1070801.

Disciogliere 1 g di *potassio periodato R* in 5 ml di una soluzione (120 g/l) di *potassio idrossido R* preparata di recente. Aggiungere 20 ml di *acqua R* e 1,5 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1*. Diluire a 50 ml con una soluzione (120 g/l) di *potassio idrossido R*, preparata di recente.

Potassio permanganato. 1070900. [7722-64-7]. Vedere la monografia *Potassio permanganato (0121)*.

Potassio permanganato soluzione. 1070902.

Soluzione 30 g/l.

Potassio permanganato soluzione fosforica. 1070901.

Disciogliere 3 g di *potassio permanganato R* in una miscela di 15 ml di *acido fosforico R* e 70 ml di *acqua R*. Diluire a 100 ml con *acqua R*.

Potassio permanganato soluzione alcalina. Disciogliere 0,5 g di *potassio permanganato R* in 100 ml di *sodio idrossido 1,0 M*.

Potassio perrenato. KReO_4 . (M_r 289,3). 1071000. [10466-65-6].

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua, poco solubile in alcool, in metanolo e in propilenglicole.

Potassio persolfato. $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. (M_r 270,3). 1071100. [7727-21-1]. Dipotassio perossodisolfato.

Cristalli incolori o polvere cristallina bianca, moderatamente solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool. Le soluzioni acquose si decompongono a temperatura ambiente e, più rapidamente, con il calore.

Conservare in un luogo fresco.

Potassio piombito soluzione. 1071200.

Disciogliere 1,7 g di *piombo acetato R*, 3,4 g di *potassio citrato R* e 50 g di *potassio idrossido R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Potassio piroantimoniato. KSb(OH)_6 . (M_r 262,9). 1071300. [12208-13-8]. Potassio esaidrossoantimoniato.

Cristalli bianchi o polvere cristallina bianca, moderatamente solubili in acqua.

Potassio piroantimoniato soluzione. 1071301.

Disciogliere 2 g di *potassio piroantimoniato R* in 95 ml di *acqua R* calda. Raffreddare velocemente ed aggiungere una soluzione contenente 2,5 g di *potassio idrossido R* in 50 ml di *acqua R* e 1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Lasciare a riposo per 24 h, filtrare e diluire a 150 ml con *acqua R*.

Potassio solfato. K_2SO_4 . (M_r 174,3). 1033100. [7778-80-5]. Cristalli incolori, solubili in acqua.

Potassio tartrato. $\text{C}_4\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. (M_r 235,3). 1071400. [921-53-9]. Dipotassio (2*R*,3*R*)-2,3-diidrossibutan-1,4-dioato emiidrato.

Polvere granulata o cristalli bianchi, solubilissimi in acqua, molto poco solubili in alcool.

Potassio tartrato acido. $\text{C}_4\text{H}_5\text{KO}_6$. (M_r 188,2). 1070200. [868-14-4]. Potassio idrogeno (2*R*,3*R*)-2,3-diidrossibutan-1,4-dioato.

Polvere cristallina bianca o cristalli leggermente opachi, incolori, poco solubili in acqua, solubili in acqua bollente, molto poco solubili in alcool.

Potassio tetraiodomercurato soluzione. 1071500.

Disciogliere 1,35 g di *mercurio(-ico) cloruro R* in 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 5 g di *potassio ioduro R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina. 1071600.

Disciogliere 11 g di *potassio ioduro R* e 15 g di *mercurio(-ico) ioduro R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Immediatamente prima dell'uso, mescolare 1 volume di questa soluzione con un volume uguale di una soluzione (250 g/l) di *sodio idrossido R*.

Potassio tetraossalato. $\text{C}_4\text{H}_3\text{KO}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. (M_r 254,2). 1071700. [6100-20-5].

Polvere cristallina bianca, moderatamente solubile in acqua, solubile in acqua bollente, poco solubile in alcool.

Potassio tiocianato. KSCN . (M_r 97,2). 1071800. [333-20-0]. Potassio solfocianato.

Cristalli incolori, deliquescenti, solubilissimi in acqua e in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Potassio tiocianato soluzione. 1071801.

Soluzione 97 g/l.

Povidone. 1068500. [9003-39-8]. Vedere la monografia *Povidone (0685)*.

Procaina cloridrato. 1109400. Vedere la monografia *Procaina cloridrato (0050)*.

D-Protil-L-fenilalanil-L-arginina 4-nitroanilide dicloridrato. $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{Cl}_2\text{N}_8\text{O}_5$. (M_r 612). 1072800.

Prolina. $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$. (M_r 115,1). 1152200. [147-85-3]. L-prolina. Acido (S)-pirrolidin-2-carbossilico.

Polvere bianca o quasi bianca, finemente cristallina, molto solubile in acqua e acidi minerali, solubile in alcool.

Contenuto: non inferiore al 99,0 per cento di $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$. $[\alpha]_D^{22}$: da -51 a -53, determinato su una soluzione al 5,0 per cento *m/V* in *acido cloridrico 1 M*.

Propanolammina.

Vedere 3-Amminopropanolo.

Propanolo. $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$. (M_r 60,1). 1072000. [71-23-8]. 1-Propanolo.

Liquido incolore limpido, miscibile con acqua e con alcool.

d_{20}^{20} : da 0,802 a 0,806.

p.e.: circa 97,2 °C.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 96 °C e 99 °C.

2-Propanolo. C₃H₈O. (*M_r* 60,1). 1072100. [67-63-0]. Alcool isopropilico.

Liquido infiammabile, incolore, limpido, miscibile con acqua e con alcool.

*d*₂₀²⁰: circa 0,785.

p.e.: da 81 °C a 83 °C.

2-Propanolo R1. 1072101.

Soddisfa ai requisiti prescritti per il 2-propanolo R e agli ulteriori requisiti seguenti:

*n*_D²⁰: circa 1,378.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,05 per cento, determinata su 10 g.

Trasmittanza minima (2.2.25), determinata utilizzando *acqua R* come bianco:

25 per cento a 210 nm,

55 per cento a 220 nm,

75 per cento a 230 nm,

95 per cento a 250 nm,

98 per cento a 260 nm.

Propetamfos. C₁₀H₂₀NO₄PS. (*M_r* 281,3). 1130900. [31218-83-4].

Può essere utilizzata un'ideale e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Propile acetato. C₅H₁₀O₂. (*M_r* 102,1). 1072600. [109-60-4].

*d*₂₀²⁰: circa 0,888.

p.e.: circa 102 °C.

p.f.: circa -95 °C.

Propile paraidrossibenzoato. 1072700. [94-13-3]. Vedere la monografia *Propile paraidrossibenzoato (0431)*.

Propilene ossido. C₃H₆O. (*M_r* 58,1). 1121800. [75-56-9].

Liquido incolore, miscibile con alcool

Propilenglicole. 1072900. [57-55-6]. Vedere *glicole propilenico R*.

Propionaldeide. Vedere *aldeide propionica R*.

Protamina solfato. 1073000. [53597-25-4 (salmina) 9007-31-2 (clupeina)]. Vedere la monografia *Protamina solfato (0569)*.

Pulegone. C₁₀H₁₆O. (*M_r* 152,2). 1073100. [89-82-7]. (*R*)-2-Isopropiliden-5-metilcicloesano. (+)-*p*-Ment-4-en-3-one.

Liquido incolore, oleoso, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

*d*₁₅²⁰: circa 0,936.

*n*_D²⁰: da 1,485 a 1,489.

[α]_D²⁰: da + 19,5 a + 22,5.

p.e.: da 222 °C a 224 °C.

Il pulegone utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Menta essenza (0405)* usando la sostanza in esame come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Putrescina. C₄H₁₂N₂. (*M_r* 88,15). 1137900. [110-60-1]. 1,4-Butandiammina. Tetrametilendiammina.

Liquido oleoso incolore, solubilissimo in acqua. Odore forte simile a quello della piperidina.

p.e.: circa 159 °C.

p.f.: circa 23 °C.

Quercetina diidrata. C₁₅H₁₀O₇·2H₂O. (*M_r* 338,2). 1138100. 2-(3,4-Diidrossifenil)-3,5,7-triidrossi-4*H*-1-benzopiran-4-one.

Cristalli gialli o polvere giallastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in acetone e in metanolo.

Acqua (2.5.12): non più del 12,0 per cento, determinata su 0,100 g.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Ginkgo foglia (1828)*.

Il contenuto non è inferiore al 90 per cento (sostanza anidra) calcolato con la procedura di normalizzazione.

Quercitrina. C₂₁H₂₀O₁₁. (*M_r* 448,4). 1138200. [522-12-3]. Quercetina 3-*L*-ramnopiranoside. 3-[(6-Desossi- α -*L*-mannopiranosilossi]-2-(3,4-diidrossifenil)-5,7-diidrossi-4*H*-1-benzopiran-4-one. Quercitroside.

Cristalli gialli, praticamente insolubili in acqua calda, solubili in alcool.

p.f.: da 176 °C a 179 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Verga d'oro (1892)* deponendo 20 μl di soluzione. Dopo vaporizzazione il cromatogramma presenta una zona fluorescente bruna-giallastra con un *R_f* di circa 0,6.

Conservare ad una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

Rame. Cu. (*M_r* 63,55). 1022100. [7440-50-8].

Lamine levigate, spire, limatura, fili o polvere del metallo puro di qualità elettrolitica.

Rame(-ico) acetato. C₄H₆CuO₄·H₂O. (*M_r* 199,7) 1022200. [142-71-2].

Cristalli o polvere verde-blu, molto solubili in acqua bollente, solubili in acqua ed in alcool, poco solubili in etere e in glicerolo 85 per cento.

Rame(-ico) cloruro. CuCl₂·2H₂O. (*M_r* 170,5). 1023000. [10125-13-0].

Polvere blu-verdastra o cristalli, deliquescenti in aria umida, efflorescenti in aria secca, molto solubili in acqua, in alcool e in metanolo, moderatamente solubili in acetone, poco solubili in etere.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Rame(-ico) edetato soluzione. 1022300.

A 2 ml di una soluzione (20 g/l) di *rame(-ico) acetato R* aggiungere 2 ml di *sodio edetato 0,1 M* e diluire a 50 ml con *acqua R*.

Rame(-ico) nitrato. $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. (M_r 241,6). 1022400. [10031-43-3]. Rame dinitrato triidrato.

Cristalli blu scuro, igroscopici, solubilissimi in acqua con reazione fortemente acida, molto solubili in alcool ed in acido nitrico diluito.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Rame(-ico) solfato. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. (M_r 249,7). 1022500. [7758-99-8].

Polvere blu o cristalli blu scuro, lentamente efflorescenti, solubilissimi in acqua, poco solubili in alcool.

Rame(-ico) solfato soluzione. 1022501.

Soluzione 125 g/l.

Rame(-oso) cloruro. CuCl . (M_r 99,0). Cloruro rameoso.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca che diventa verdastra per esposizione all'aria e nerastra per esposizione alla luce; praticamente insolubile in acqua e in alcool, solubile in acido cloridrico, in ammoniacca diluita e nelle soluzioni di ammonio cloruro.

Conservare al riparo dalla luce.

Rame(-oso) cloruro soluzione. Disciogliere 1,25 g di *rame(-oso) cloruro R* e 10 g di *ammonio cloruro R* in *acqua R* contenente 3 ml di una soluzione (275 g/l) di *sodio metabisolfito R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Dopo alcuni minuti la soluzione è limpida, incolore o appena giallastra.

Conservare in un recipiente pieno.

Rame tetrammina soluzione ammoniacale. 1022600.

Disciogliere 34,5 g di *rame(-ico) solfato R* in 100 ml di *acqua R* e, agitando, aggiungere goccia a goccia *ammoniacca concentrata R* finché il precipitato che si forma sia completamente disciolto. Mantenendo la temperatura al di sotto dei 20 °C, aggiungere goccia a goccia, continuando ad agitare, 30 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Filtrare su un filtro di vetro sinterizzato (40), lavare con *acqua R* finché il filtrato è limpido e riprendere il precipitato con 200 ml di *ammoniacca concentrata R*. Filtrare su un filtro di vetro sinterizzato e ripetere la filtrazione per ridurre al minimo il residuo.

Ramnosio. $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$. (M_r 182,2). 1074900. [6155-35-7]. L-(+)-Ramnosio. 6-Desossi-L-mannosio.

Polvere cristallina bianca, molto solubile in acqua.

$[\alpha]_D^{20}$: da + 7,8 a + 8,3, determinato su una soluzione (50 g/l) di *acqua R* contenente circa lo 0,05 per cento di NH_3 .

Raponticina. $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_9$. (M_r 420,4). 1075000. [155-58-8]. 3-Idrossi-5-[2-(3-idrossi-4-metossifenil)etenil]fenil β -D-glucopiranoside.

Polvere cristallina grigio-giallastra, solubile in alcool e in metanolo.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Rabarbaro (0291)*; il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Reattivo .., Reattivo al , Reattivo di ..vedere al nome delle sostanze che lo compongono

Reattivo cupro-citrico. Vedere *cupri-citrica soluzione R*.

Resina cationica debole. 1096000.

Resina polimetacrilica, leggermente acida, con gruppi carbossilici presenti in forma protonata.

Dimensione delle particelle: da 75 μm a 160 μm .

Limiti del pH di utilizzo: da 5 a 14.

Massima temperatura di utilizzo: 120 °C.

Resina a scambio anionico. 1007200.

Resina in forma clorurata contenente gruppi ammoniaci quaternari $[\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]$ legati ad un reticolo polimerico costituito da polistirene reticolato con il 2 per cento di divinilbenzene. E' disponibile in granuli e la dimensione delle particelle è specificata nella monografia.

Lavare la resina con *sodio idrossido 1 M* su un filtro di vetro sinterizzato finché i lavaggi risultino esenti da cloruri, poi lavare con *acqua R* fino a lavaggi neutri. Sospendere in *acqua esente da ammonio R*, preparata di recente, e proteggere dall'anidride carbonica atmosferica.

Resina a scambio anionico R1. 1123400.

Resina contenente gruppi ammoniaci quaternari $[\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]$ legati ad un substrato di metacrilato.

Resina a scambio anionico R2. 1141900.

Una miscela di particelle omogenee idrofile di polietere 10 μm e un sale di ammonio quaternario forniscono una matrice adatta alla cromatografia a forte scambio anionico per proteine.

Resina a scambio anionico, debole. 1146700.

Una resina con gruppi dietilaminoetilici legati a un lattice consistente di poli(metilmetacrilato).

Resina a scambio anionico fortemente basica. 1026600.

Resina di tipo gelatinoso in forma ossidrilica contenente gruppi ammoniaci quaternari $[\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]$, tipo 1] legati ad un reticolo polimerico costituito da polistirene reticolato con l'8 per cento di divinilbenzene.

Granuli trasparenti marroni.

Dimensione delle particelle: da 0,2 mm ad 1,0 mm.

Contenuto di umidità: circa il 50 per cento.

Capacità di scambio totale: almeno 1,2 mEq/ml.

Resina a scambio anionico fortemente basica per cromatografia. 1112700.

Resina con gruppi ammoniaci quaternari legati ad un substrato reticolato con divinilbenzene.

Resina a scambio cationico. 1016700.

Resina in forma protonata dotata di gruppi solfonici legati ad un reticolo polimerico costituito da polistirene reticolato con l'8 per cento di divinilbenzene. E' disponibile in granuli e la dimensione delle particelle è specificata dopo il nome del reattivo nei saggi dove viene utilizzato.

Resina a scambio cationico R1. 1121900.

Resina in forma protonata dotata di gruppi solfonici legati ad un substrato polimerico costituito da polistirene reticolato con il 4 per cento di divinilbenzene. E' disponibile in granuli e la dimensione delle particelle è specificata dopo il nome del reattivo nei saggi dove viene utilizzato.

Resina a scambio cationico (forma calcica). 1104600.

Resina in forma calcica dotata di gruppi acidi solfonici legati ad un reticolo polimerico costituito da polistirene reticolato con l'8 per cento di divinilbenzene. La dimensione delle particelle è specificata dopo il nome del reattivo nei saggi dove viene utilizzato.

Resina a scambio ionico fortemente acida. 1085400.

Resina in forma protonata dotata di gruppi acidi solfonici legati ad un reticolo polimerico costituito da polistirene reticolato con l'8 per cento di divinilbenzene. E' disponibile in granuli sferici; se non diversamente prescritto la dimensione delle particelle varia da 0,3 mm a 1,2 mm.

Capacità. Da 4,5 mmol a 5 mmol per grammo, con un contenuto di acqua del 50-60 per cento.

Preparazione della colonna. Se non diversamente prescritto utilizzare un tubo, munito di un setto di vetro sinterizzato, avente una lunghezza di 400 mm, un diametro interno di 20 mm ed un'altezza di riempimento di circa 200 mm. Introdurre la resina, mescolandola con *acqua R* e versare l'impasto nel tubo, assicurandosi che non restino intrappolate delle bolle d'aria tra le particelle. Durante l'utilizzo non lasciare che il liquido scenda al di sotto della superficie della resina.

Se la resina è in forma protonata, lavare con *acqua R* finché per la neutralizzazione di 50 ml non siano necessari più di 0,05 ml di *sodio idrossido 0,1 M*, usando come indicatore 0,1 ml di *metilarancio soluzione R*.

Se la resina è in forma sodica o necessita di una rigenerazione, passare lentamente in colonna 100 ml di una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico R1* ed *acqua R* e lavare poi con *acqua R* come descritto in precedenza.

Resina ad esclusione ionica per cromatografia. 1131000.

Resina con gruppi solfonici legati ad un substrato polimerico costituito da polistirene reticolato con divinilbenzene.

Resina per la cromatografia ionica a fase inversa. 1131100.

Resina a carattere non-polare, neutra, macroporosa, con una area superficiale specifica alta, costituita da un substrato polimerico di polistirene reticolato con divinilbenzene.

Resina scambiatrice. Vedere *resina a scambio R*.

Resorcina. Vedere *resorcinolo R*.

Resorcina reattivo. Vedere *resorcinolo reattivo R*.

Resorcinolo. 1,3-Benzendiolo. 1074800. [108-46-3]. Vedere la monografia *Resorcinolo (0290)*.

Resorcinolo reattivo. 1074801.

A 80 ml di *acido cloridrico R1* aggiungere 10 ml di una soluzione (20 g/l) di *resorcinolo R* e 0,25 ml di una soluzione (25 g/l) di *rame(-ico) solfato R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare la soluzione almeno 4 h prima dell'uso.

Conservare a 2-8 °C ed usare entro 1 settimana.

Ribosio. C₅H₁₀O₅. (M_r 150,1). 1109600. [50-69-1]. D-Ribosio.

Solubile in acqua, leggermente solubile in alcool.

p.f.: da 88 °C a 92 °C.

Rodamina B. C₂₈H₃₁ClN₂O₃. (M_r 479,0). 1075100. [81-88-9]. Schultz No. 864. Colour Index No. 45170. [9-(2-Carbossifenil)-6-dietilammino-3H-xanten-3-iliden]-dietilammonio cloruro.

Cristalli verdi o polvere viola-rossastra, solubilissimi in acqua ed in alcool.

Rosso chinaldina. C₂₁H₂₃IN₂. (M_r 430,3). 1073800. [117-92-0]. 2-[2-[4-(Dimetilammino)fenil]etenil]-1-etilchinolinio ioduro.

Polvere scura nero-bluastro, moderatamente solubile in acqua, molto solubile in alcool.

Rosso chinaldina soluzione. 1073801.

Disciogliere 0,1 g di *rosso chinaldina R* in *metanolo R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Viraggio. Da pH 1,4 (incolore) a pH 3,2 (rosso).

Rosso Congo. C₃₂H₂₂N₆Na₂O₆S₂. (M_r 697). 1022000. [573-58-0]. Schultz No.360. Colour Index No. 22120. Disodio 2,2'-(difetil-4,4'-diilbis(azo)bis(1-amminonafalen-4-solfonato).

Polvere rosso-brunastra, solubile in acqua.

Rosso Congo cartina. 1022002.

Immergere strisce di carta da filtro per alcuni minuti in *rosso Congo soluzione R*. Lasciare asciugare.

Rosso Congo soluzione. 1022001.

Disciogliere 0,1 g di *rosso Congo R* in una miscela di 20 ml di *alcool R* e *acqua R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio per la sensibilità. A 0,2 ml della soluzione di rosso Congo aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* e 0,3 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. La soluzione è blu. Non sono necessari più di 0,3 ml di *sodio idrossido 0,1 M* per far virare il colore al rosa.

Viraggio: pH 3,0 (blu) a pH 5,0 (rosa).

Rosso cresolo. $C_{21}H_{18}O_5S$. (M_r 382,4). 1022800. [1733-12-6]. Cresolo rosso. Cresolsolfonftaleina. 4,4'-(3H-2,1-Benzossatiol-3-iliden)bis-(2-metilfenolo) S,S-diossido.

Polvere cristallina bruno-rossastra, poco solubile in acqua, solubile in alcool e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Rosso cresolo soluzione. 1022801. Cresolo rosso soluzione.

Disciogliere 0,1 g di *rosso cresolo R* in una miscela di 2,65 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 20 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. Una miscela di 0,1 ml di rosso cresolo soluzione e 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*, alla quale sono stati aggiunti 0,15 ml di *sodio idrossido 0,02 M* è rosso-porpora. Non sono necessari più di 0,15 ml di *acido cloridrico 0,02 M* per far virare la colorazione al giallo. *Viraggio.* Da pH 7,0 (giallo) a pH 8,6 (rosso).

Rosso fenolo. 1063600. [143-74-8]. Vedere la monografia *Fenolsolfonftaleina (0242)*.

Rosso fenolo soluzione. 1063601.

Disciogliere 0,1 g di *rosso fenolo R* in una miscela di 2,82 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 20 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. Aggiungere 0,1 ml di rosso fenolo soluzione a 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. La soluzione è gialla. Non sono necessari più di 0,1 ml di *sodio idrossido 0,02 M* per far virare l'indicatore al violetto-rossastro.

Viraggio. Da pH 6,8 (giallo) a pH 8,4 (violetto-rossastro).

Rosso fenolo soluzione R2. 1063603.

Soluzione I. Disciogliere 33 mg di *rosso fenolo R* in 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Soluzione II. Disciogliere 25 mg di *ammonio solfato R* in 235 ml di *acqua R*; aggiungere 105 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 135 ml di *acido acetico diluito R*.

Aggiungere 25 ml della soluzione I alla soluzione II. Se necessario, portare il pH della miscela a 4,7.

Rosso fenolo soluzione R3. 1063604.

Soluzione I. Disciogliere 33 mg di *rosso fenolo R* in 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluire a 50 ml con *acqua R*.

Soluzione II. Disciogliere 50 mg di *ammonio solfato R* in 235 ml di *acqua R*; aggiungere 105 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 135 ml di *acido acetico diluito R*.

Aggiungere 25 ml della soluzione I alla soluzione II; se necessario, portare il pH della miscela a 4,7.

Rosso metile. $C_{15}H_{15}N_3O_2$. (M_r 269,3). 1055100. [493-52-7]. Schultz No. 250. Colour Index No. 13020. Acido 2-(4-dimetilamminofenilazo)benzoico.

Polvere rosso scuro o cristalli violetti, praticamente insolubili in acqua, solubili in alcool.

Rosso metile indicatore misto. 1055101.

Disciogliere 0,1 g di *rosso metile R* e 50 mg di *blu metilene R* in 100 ml di *alcool R*.

Viraggio. Da pH 5,2 (violetto-rosso) a pH 5,6 (verde).

Rosso metile soluzione. 1055102.

Disciogliere 50 mg di *rosso metile R* in una miscela di 1,86 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 50 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. A 0,1 ml di rosso metile soluzione aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* e 0,05 ml di *acido cloridrico 0,02 M*. La soluzione è rossa. Non sono necessari più di 0,1 ml di *sodio idrossido 0,02 M* per far virare l'indicatore al giallo.

Viraggio. Da pH 4,4 (rosso) a pH 6,0 (giallo).

Rosso neutro. $C_{15}H_{17}ClN_4$. (M_r 288,8). [553-24-2]. Rosso basico 5. $N^8, N^8, 3$ -Trimetil-2,8-fenossindiammina monocloridrato.

Polvere verde scura, solubile in acqua ed alcool con colorazione rossa. Produce una colorazione rossa con acidi e una colorazione arancione con alcali.

Rosso neutro soluzione.

Soluzione allo 0,1 per cento *m/V* di *rosso neutro R* in *etanolo al 50 per cento V/V R* (intervallo di pH 6,8-8,0).

Rosso rutenio. $[(NH_3)_5RuORu(NH_3)_4ORu(NH_3)_5]Cl_6 \cdot 4H_2O$. (M_r 858). 1075200. [11103-72-3].

Polvere rosso-brunastra, solubile in acqua.

Rosso rutenio soluzione. 1075201.

Soluzione 0,8 g/l in *piombo acetato soluzione R*.

Rosso solido B sale. $C_{17}H_{13}N_3O_9S_2$. (M_r 467,4). 1037500. [56315-29-8]. Schultz No. 155. Colour Index No. 37125. Sale di rosso solido B. 2-Metossi-4-nitrobenzodiazonio idrogeno naftalen-1,5-disolfonato.

Polvere giallo-arancione, solubile in acqua, poco solubile in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce, a 2-8 °C.

Rosso Sudan G. $C_{17}H_{14}N_2O_2$. (M_r 278,3). 1085800. Schultz No.149. Colour Index No. 12150. Rosso solvente 1. Sudan 3. 1-[(2-Metossifenil)azo]-2-naftalenolo. Polvere bruno-rossastra, praticamente insolubile in acqua.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento. Deporre 10 μ l di una soluzione (0,1 g/l) in *diclorometano R* ed eluire per un percorso di 10 cm con lo stesso solvente. Il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Ruscogenine. 1141300.

Miscela di neoruscogenina ($C_{27}H_{40}O_4$; M_r 428,6) e ruscogenina ($C_{27}H_{42}O_4$; M_r 430,6).

Polvere bianca, molto poco solubile in acqua, solubile in alcool.

Le ruscogenine utilizzate in cromatografia liquida soddisfano i seguenti requisiti addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Rusco rizoma* (1847).

Il contenuto non è inferiore del 90 per cento di ruscogenine, del quale almeno il 60 per cento consiste di neoruscogenina, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Il reattivo del laboratorio Vinyals è risultato idoneo.

Rutina. $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$. (M_r 665). 1075300. [153-18-4]. Rutoside. 3-(*O*-6-Desossi- α -L-mannopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilossi)-2-(3,4-diidrossifenil)-5,7-diidrossi-4*H*-cromen-4-one.

Polvere cristallina gialla che imbrunisce alla luce, molto poco solubile in acqua, solubile in circa 400 parti di acqua bollente, poco solubile in alcool, praticamente insolubile in etere, solubile nelle soluzioni di idrossidi alcalini ed in ammoniaca.

p.f.: circa 210 °C, con decomposizione.

Una soluzione in *alcool R* mostra due massimi di assorbimento (2.2.25), a 259 nm e a 362 nm.

Conservare al riparo dalla luce.

Rutoside. Vedere *rutina R*.

Sabbia 1075800.

Granuli di silice bianchi o leggermente grigiastri avente una dimensione delle particelle compresa tra 150 μ m e 300 μ m.

Sabinene. $C_{10}H_{16}$. (M_r 136,2). 1109700. [2009-00-9]. 4(10)-Tuiene. 4-Metilen-1-isopropilbicyclo[3.1.0]esano.

Liquido oleoso, incolore.

d_{25}^{25} : circa 0,843.

n_D^{20} : circa 1,468.

p.e.: da 163 °C a 165 °C.

Il sabinene usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancio amaro fiore essenza* (1175), usando la sostanza da esaminare come soluzione in esame.

L'area del picco principale non è inferiore al 99,0 per cento dell'area totale dei picchi.

Saccarina sodica. 1131400. [128-44-9]. Vedere la monografia *Saccarina sodica* (0787).

Saccarosio. 1085700. 57-50-11. Vedere la monografia *Saccarosio* (0204).

Quando il saccarosio è usato per il controllo del polarimetro, deve essere mantenuto asciutto in un'ampolla sigillata.

Safrolo. $C_{10}H_{10}O_2$. (M_r 162,2). 1131200. [94-59-7]. 5-(Prop-2-enil)-1,3-benzodiossolo. 4-Allil-1,2-(metilendiossi)benzene.

Liquido oleoso, incolore o leggermente giallo, con odore di sassafrasso, insolubile in acqua, solubilissimo in alcool, miscibile con esano.

d_{20}^{20} : da 1,095 a 1,096.

n_D^{20} : da 1,537 a 1,538.

p.e.: da 232 °C a 234 °C.

Punto di congelamento: circa 11 °C.

Il safrolo usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Cannella di Ceylon corteccia essenza* (1501).

Il contenuto non è inferiore al 96,0 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Salicilaldeide. $C_7H_6O_2$. (M_r 122,1). 1075400. [90-02-8]. 2-Idrossibenzaldeide. Aldeide salicilica.

Liquido oleoso, limpido, incolore.

d_{20}^{20} : circa 1,167.

n_D^{20} : circa 1,574.

p.e.: circa 196 °C.

p.f.: circa - 7 °C.

Salicilaldeide-azina. $C_{14}H_{12}N_2O_2$. (M_r 240,3). 1075500. [959-36-4]. 2,2'-Azinodimetildifenolo.

Disciogliere 0,30 g di *idrazina solfato R* in 5 ml di *acqua R*, aggiungere 1 ml di *acido acetico glaciale R* e 2 ml di una soluzione, preparata di recente, di *salicilaldeide R* al 20 per cento *V/V* in *2-propanolo R*. Mescolare, lasciare a riposo fino al formarsi di un precipitato giallo. Agitare con due porzioni, da 15 ml ciascuna, di *diclorometano R*. Riunire gli strati organici e seccare su *sodio solfato anidro R*. Decantare o filtrare la soluzione ed evaporare a secco. Ricristallizzare per raffreddamento, da una miscela di 40 volumi di *metanolo R* e 60 volumi di *toluene R*. Essiccare i cristalli sotto vuoto. p.f.: circa 213 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nel saggio per l'idrazina nella monografia *Povidone (0685)*; il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Salicina. C₁₃H₁₈O₇. (M_r 286,3). 1131300. [138-52-3]. 2-(Idrossimetil)fenil-β-D-glucopiranoside. Salicoside.

[α]_D²⁰: -62,5 ± 2.

p.f.: da 199 °C a 201 °C.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Salice corteccia (1583)* alla concentrazione della soluzione di riferimento. Il contenuto non è inferiore al 99,0 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Santonina. C₁₅H₁₈O₃. (M_r 246,3). 1122000. [481-06-1]. (-)-α-Santonina. 3,5a,9-Trimetil-3a,5,5a,9b-tetraidro-3H,4H-nafto[1,2]furan-2,8-dione.

Cristalli lucidi incolori che si colorano di giallo alla luce, molto poco solubili in acqua, molto solubili in etanolo caldo, moderatamente solubili in etanolo.

[α]_D¹⁸: -173 in etanolo.

p.f.: da 174 °C a 176 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nel saggio di identificazione C nella monografia *Arnica fiore (1391)*, il cromatogramma ottenuto con 10 μl della soluzione presenta una zona di estinzione con un R_f di circa 0,5. Spruzzare con *aldeide anisica soluzione R* e esaminare mentre si scalda a 105 °C per 5-10 min. Alla luce del giorno la zona di attenuazione della fluorescenza è dapprima gialla ma vira rapidamente al rosso-violetto.

Sclareolo. C₂₀H₃₆O₂. (M_r 308,5). 1139900. [515-03-7]. (1R,2R,4aS,8aS)-1-[(3R)-3-Idrossi-3-metilpent-4-enil]-2,5,5,8a-tetrametildecadronaftalen-2-olo.

Cristalli inodori.

[α]_D²⁰: 6,7, in soluzione in etanolo.

p.e._{19 mm}: da 218 °C a 220 °C.

p.f.: da 96 °C a 98 °C.

Lo sclareolo utilizzato nel procedimento cromatografico nella monografia Salvia essenza (1850) soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Salvia essenza (1850)*.

Il contenuto di sclareolo non è inferiore al 97 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Scopolamina bromidrato. 1044800. [6533-68-2]. Vedere la monografia *Scopolamina bromidrato (0106)*.

Scopoletina. C₁₀H₈O₄ (M_r 192,2). 1158700. [92-61-5]. 7-Idrossi-6-metossi-2H-1-benzopirano-2-one. 7-idrossi-6-metossicumarina.

Cristalli fini, leggermente giallastri.

p.f.: da 202 °C a 208 °C.

SDS-PAGE tampone per elettroforesi. 1114900.

Disciogliere 151,4 g di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 721,0 g di *glicina R* e 50,0 g di *sodio laurilsolfato R* in *acqua R* e diluire a 5000 ml con lo stesso solvente. Immediatamente prima dell'uso, diluire a 10 volte il suo volume con *acqua R* e mescolare. Misurare il pH (2.2.3) della soluzione diluita. Il pH è compreso tra 8,1 e 8,8.

SDS-PAGE tampone di dissoluzione del campione (concentrato). 1115000.

Disciogliere 1,89 g di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 5,0 g di *sodio laurilsolfato R* e 50 mg di *blu bromofenolo R* in *acqua R*. Aggiungere 25,0 ml di *glicerolo R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Aggiustare il pH a 6,8 con *acido cloridrico R* e diluire a 125 ml con *acqua R*.

SDS-PAGE tampone del campione per condizioni riducenti (concentrato). 1122100.

Disciogliere 3,78 g di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 10,0 g di *sodio dodecilsolfato R* e 100 mg di *blu bromofenolo R* in *acqua R*. Aggiungere 50,0 ml di *glicerolo R* e diluire a 200 ml con *acqua R*. Aggiungere 25,0 ml di *2-mercaptoetanolo R*. Aggiustare il pH a 6,8 (2.2.3) con *acido cloridrico R* e diluire a 250,0 ml con *acqua R*.

Alternativamente, il ditiotreitolo può essere usato come agente riducente invece del 2-mercaptoetanolo. In questo caso preparare il tampone campione come segue: disciogliere 3,78 g di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 10,0 g di *sodio dodecilsolfato R* e 100 mg di *blu bromofenolo R* in *acqua R*. Aggiungere 50,0 ml di *glicerolo R* e diluire a 200 ml con *acqua R*. Aggiustare il pH a 6,8 (2.2.3) con *acido cloridrico R*, e diluire a 250,0 ml con *acqua R*. Immediatamente prima dell'uso, aggiungere *ditiotreitolo R* fino ad una concentrazione finale di 100 mM.

Selenio. Se. (A_r 79,0). 1075900. [7782-49-2].

Polvere da rosso-bruna a nera o granuli, praticamente insolubili in acqua e in alcool, solubili in acido nitrico. p.f.: circa 220 °C

Serina. 1076000. [56-45-1]. Vedere la monografia *Serina (0788)*.

Setaccio molecolare. 1056600.

Setaccio molecolare costituito da sodio alluminosilicato. E' disponibile in granuli aventi una dimensione dei pori di 0,4 nm ed un diametro di 2 mm.

Setaccio molecolare per cromatografia. 1129700.

Setaccio molecolare costituito da sodio alluminosilicato. La dimensione dei pori è indicata dopo il nome del reattivo nei saggi dove è utilizzato. Se necessario è indicata anche la dimensione delle particelle.

Sierimmune rabico coniugato fluorescente. 1038700.

Frazione di immunoglobulina con un elevato titolo anticorpale rabico, preparata dal siero di animali idonei che sono stati immunizzati con virus rabico inattivato; l'immunoglobulina è coniugata con fluoresceina isotiocianato.

Silicristina. $C_{25}H_{22}O_{10}$. (M_r 482,4). 1151500. [33889-69-9]. (2*R*,3*R*)-3,5,7-Triidrossi-2-[(2*R*,3*S*)-7-idrossi-2-(4-idrossi-3-metossifenil)-3-idrossimetil-2,3-diidro-1-benzofuran-5-il]croman-4-one.

Polvere bianca o gialla, praticamente insolubile in acqua, solubile in acetone e in metanolo.

Silidianina. $C_{25}H_{22}O_{10}$. (M_r 482,4). 1151600. [29782-68-1]. (3*R*,3*aR*,6*R*,7*aR*,8*R*)-7*a*-Idrossi-8-(4-idrossi-3-metossifenil)-4-[(2*R*,3*R*)-3,5,7-triidrossi-4-ossocroman-2-il]-2,3,3*a*,7*a*-tetraidro-3,6-metan-1-benzofuran-7(6*aH*)-one.

Polvere bianca o gialla, praticamente insolubile in acqua, solubile in acetone e in metanolo.

Sinensetina. $C_{20}H_{20}O_7$. (M_r 372,4). 1110500. [2306-27-6]. 3',4',5,6,7-Pentametossiflavone.

Polvere cristallina bianca, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

p.f.: circa 177 °C.

Assorbanza (2.2.25): una soluzione in *metanolo R* mostra tre massimi di assorbimento a 243 nm, a 268 nm e a 330 nm.

Determinazione quantitativa: Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come prescritto nella monografia *Tè di Giava* (1229). Il contenuto non è inferiore al 95,0 per cento calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Sitostanolo. $C_{29}H_{52}O$. (M_r 416,7). 1140100. [19466-47-8]. Diidro- β -sitosterolo.

Contiene non meno del 95,0 per cento di $C_{29}H_{52}O$.

β -Sitosterolo. $C_{29}H_{50}O$. (M_r 414,7). 1140200. [83-46-5]. Stigmast-5-en- β -olo.

Polvere bianca, praticamente insolubile in acqua, moderatamente solubile in tetraidrofurano.

Contiene non meno del 75,0 per cento *m/m* di $C_{29}H_{50}O$, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), come prescritto nella monografia *Fitosterolo* (1911).

Soluzione in esame. Disciogliere 0,100 g della sostanza in esame in *tetraidrofurano R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente. Introdurre 100 μ l di questa soluzione in un pallone adatto da 3 ml ed evaporare a secchezza sotto *azoto R*. Al residuo aggiungere 100 μ l di una miscela preparata di recente di 50 μ l di *1-metilimidazolo R* e 1,0 ml di *eptafluoro-N-metil-N-(trimetilsilil)butanammide R*. Chiudere il pallone e scaldare a 100 °C per 15 min. Lasciar raffreddare. Iniettare 1 μ l della soluzione in esame.

Sodio. Na. (A_r 22,99). 1078500. [7440-23-5].

Metallo la cui superficie tagliata di recente è grigio-argentea brillante. A contatto con l'aria si annerisce rapidamente ed è completamente ossidato a sodio idrossido e convertito in sodio carbonato. Reagisce violentemente con l'acqua, producendo idrogeno ed una

soluzione di sodio idrossido; è solubile in metanolo anidro, producendo idrogeno ed una soluzione di sodio metossido; praticamente insolubile in etere ed in etere di petrolio.

Conservare in etere di petrolio o in paraffina liquida.

Sodio acetato. 1078600. [6131-90-4]. Vedere la monografia *Sodio acetato* (0411).

Sodio acetato anidro. $C_2H_3NaO_2$. (M_r 82,0). 1078700. [127-09-3].

Cristalli incolori o granuli, solubilissimi in acqua, moderatamente solubili in alcool.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 2,0 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 100-105 °C.

Sodio arseniato dibasico. Vedere *disodio arseniato R*.

Sodio ascorbato soluzione. 1078800. [134-03-2].

Disciogliere 3,5 g di *acido ascorbico R* in 20 ml di *sodio idrossido 1 M*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Sodio azide. NaN_3 . (M_r 65,0). 1078900. [26628-22-8].

Polvere cristallina o cristalli bianchi, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool, praticamente insolubili in etere.

Sodio bicarbonato. 1081300. [144-55-8]. Vedere la monografia *Sodio bicarbonato* (0195).

Sodio bicarbonato soluzione. 1081301.

Soluzione 42 g/l.

Sodio bismutato. $NaBiO_3$. (M_r 280,0). 1079000. [12232-99-4].

Contiene non meno dell'85,0 per cento di $NaBiO_3$.

Polvere gialla o bruno-giallastra che si decompone lentamente con l'umidità o ad alta temperatura, praticamente insolubile in acqua fredda.

Determinazione quantitativa. Sospendere 0,200 g in 10 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R* e aggiungere 20 ml di *acido solforico diluito R*. Utilizzando come indicatore 1 ml di *amido soluzione R*, titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* fino al viraggio a colorazione arancione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 14,00 mg di $NaBiO_3$.

Sodio bisolfito. Vedere *Sodio idrogeno solfito R*.

Sodio borato. Vedere *sodio tetraborato R*.

Sodio butansolfonato. $C_4H_9NaO_3S$. (M_r 160,2). 1115600. [2386-54-1].

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua.

p.f.: maggiore di 300 °C.

Sodio carbonato. 1079200. [6132-02-1]. Vedere la monografia *Sodio carbonato decaidrato* (0191).

Sodio carbonato anidro. Na_2CO_3 . (M_r 106,0). 1079300. [497-19-8].

Polvere bianca, igroscopica, molto solubile in acqua.

Quando è riscaldata a 300 °C perde non più dell'1 per cento della sua massa.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio carbonato soluzione. 1079301.

Soluzione (106 g/l) di *sodio carbonato anidro R*.

Sodio carbonato soluzione R1. 1079302.

Soluzione (20 g/l) di *sodio carbonato anidro R* in *sodio idrossido 0,1 M*.

Sodio carbonato soluzione R2. 1079303.

Soluzione (40 g/l) di *sodio carbonato anidro R* in *sodio idrossido 0,2 M*.

Sodio carbonato monoidrato. $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. 1131700. [5968-11-6]. Vedere la monografia *Sodio carbonato monoidrato (0192)*.

Sodio cetostearilsolfato. 1079400. Vedere la monografia *Sodio cetostearilsolfato (0847)*.

Sodio citrato. 1079600. [6132-04-3]. Vedere la monografia *Sodio citrato (0412)*.

Sodio citrato acido. $\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. (M_r 263,1). 1033200. [144-33-2]. Disodio idrogeno 2-idrossipropan-1,2,3-tricarbossilato sesquidrato.

Polvere bianca, solubile in meno di 2 parti di acqua, praticamente insolubile in alcool.

Sodio cloruro. 1079500. [7647-14-5]. Vedere la monografia *Sodio cloruro (0193)*.

Sodio cloruro soluzione. 1079502.

Soluzione al 20 per cento *m/m*.

Sodio cloruro soluzione satura. 1079503.

Mescolare 1 parte di *sodio cloruro R* con 2 parti di *acqua R*, agitare di volta in volta e lasciare a riposo.

Prima dell'uso, decantare la soluzione da ogni eventuale sostanza indisciolta e filtrare se necessario.

Sodio cobaltinitrito. $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$. (M_r 403,9) 1079700. [13600-98-1]. Trisodio esanitrocobaltato (III).

Polvere giallo-arancione, molto solubile in acqua, poco solubile in alcool.

Sodio cobaltinitrito soluzione. 1079701.

Soluzione 100 g/l. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Sodio decansolfonato. $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{NaO}_3\text{S}$. (M_r 244,3). 1079800. [13419-61-9].

Polvere cristallina o fiocchi, bianchi o quasi bianchi, molto solubili in acqua, solubili in metanolo.

Sodio decilsolfato. $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{NaO}_4\text{S}$. (M_r 260,3). 1138600. [142-87-0].

Contiene non meno del 95,0 per cento di $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{NaO}_4\text{S}$. Polvere bianca o quasi bianca, molto solubile in acqua.

Sodio desossicolato. $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NaO}_4$. (M_r 414,6). 1131800. [302-95-4]. Sodio 3 α ,12 α -diidrossi-5 β -colan-24-oato.

Sodio desossiribonucleato. (Circa l'85 per cento ha una massa molecolare relativa di 2×10^7 o maggiore). 1079900. [73049-39-5].

Preparazione fibrosa bianca ottenuta dal timo di vitello.

Saggio di idoneità. Disciogliere 10 mg in *tampone imidazolo soluzione a pH 6,5 R* e diluire a 10,0 ml con la stessa soluzione tampone (soluzione a). Diluire 2,0 ml della soluzione (a) a 50,0 ml con *tampone imidazolo soluzione a pH 6,5 R*. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione, misurata a 260 nm, è compresa tra 0,4 e 0,8.

A 0,5 ml della soluzione (a) aggiungere 0,5 ml di *tampone imidazolo soluzione a pH 6,5 R* e 3 ml di acido perclorico (HClO_4 25 g/l). Si forma un precipitato. Centrifugare. L'assorbanza del liquido soprannatante, misurata a 260 nm utilizzando una miscela di 1 ml di *tampone imidazolo soluzione a pH 6,5 R* e 3 ml di acido perclorico (HClO_4 25 g/l) come bianco, non è superiore a 0,3.

In ognuna di due provette porre 0,5 ml della soluzione (a) e 0,5 ml di una soluzione di una preparazione di riferimento di streptodornasi contenente 10 U.I. per millilitro in *tampone imidazolo soluzione a pH 6,5 R*. Ad una provetta aggiungere immediatamente 3 ml di acido perclorico (HClO_4 25 g/l). Si forma un precipitato. Centrifugare e raccogliere il liquido soprannatante (a). Scaldare l'altra provetta a 37 °C per 15 min ed aggiungere 3 ml di acido perclorico (HClO_4 25 g/l). Centrifugare e raccogliere il liquido soprannatante (b). L'assorbanza del liquido soprannatante (b), misurata a 260 nm in confronto a quella del liquido soprannatante (a) non è inferiore a 0,15.

Sodio dietilditiocarbammato. $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NNaS}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. (M_r 225,3). 1080000. [20624-25-3].

Cristalli incolori o bianchi, molto solubili in acqua, solubili in alcool. La soluzione acquosa è incolore.

Sodio ditionito. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. (M_r 174,1). 1080400. [7775-14-6]. Sodio idrosolfito.

Polvere cristallina bianca o bianco-grigiastra, che si ossida all'aria, solubilissima in acqua, poco solubile in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio docusato. 1034100. [577-11-7]. Diottile sodio solfosuccinato. Vedere la monografia *Docusato sodico (1418)*.

Sodio dodecilsolfato. 1080500. [151-21-3]. Vedere la monografia *Sodio laurilsolfato (0098)* ad eccezione del contenuto che non dovrebbe essere inferiore al 99,0 per cento.

Sodio e potassio tartrato. $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. (M_r 282,2). 1083500. [6381-59-5]. Potassio e sodio tartrato.

Cristalli prismatici incolori, solubilissimi in acqua.

Sodio edetato. 1080600. [6381-92-6]. Vedere la monografia *Sodio edetato (0232)*.

Sodio eptansolfonato. $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NaO}_3\text{S}$. (M_r 202,3). 1081000. [22767-50-6].

Massa cristallina bianca o quasi bianca, molto solubile in acqua, solubile in metanolo.

Sodio eptansolfonato monoidrato. $C_7H_{15}NaO_3S \cdot H_2O$. (M_r 220,3). 1081100.

Contiene non meno del 96 per cento di $C_7H_{15}NaO_3S$, calcolato con riferimento alla sostanza anidra.

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua, molto poco solubile in etanolo, praticamente insolubile in etere.

Acqua (2.5.12). Non più dell'8 per cento, determinata su 0,300 g.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 0,150 g in 50 ml di *acido acetico anidro R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 20,22 mg di $C_7H_{15}NaO_3S$.

Sodio esansolfonato. $C_6H_{13}NaO_3S$. (M_r 188,2). 1081200. [2832-45-3].

Polvere bianca o quasi bianca, molto solubile in acqua.

Sodio fluoresceinato. $C_{20}H_{10}Na_2O_5$. (M_r 376,3). 1080700. [518-47-8]. Schultz No. 880. Colour Index No. 45350. Fluoresceina sodica. Disodio 2-(6-ossido-3-oxo-3*H*-xanten-9-il)benzoato.

Polvere rosso-arancione, molto solubile in acqua. Le soluzioni acquose mostrano un'intensa fluorescenza verde-giallastra.

Sodio fluoruro. 1080800. [7681-49-4]. Vedere la monografia *Sodio fluoruro* (0514).

Sodio formiato. $CHNaO_2$. (M_r 68,0). 1122200. [141-53-7]. Sodio metanoato.

Polvere cristallina bianca o granuli deliquescenti, solubile in acqua e in glicerolo, leggermente solubile in alcool.

p.f.: circa 253 °C.

Sodio fosfato dibasico. 1033300. [10039-32-4]. Vedere la monografia *Sodio fosfato dibasico dodecaidrato* (0118).

Sodio fosfato dibasico soluzione. 1033301.

Soluzione 90 g/l.

Sodio fosfato dibasico anidro. Na_2HPO_4 . (M_r 142,0). 1033400. [7558-79-4].

Sodio fosfato dibasico diidrato. 1033500. [10028-24-7]. Vedere la monografia *Sodio fosfato dibasico diidrato* (0602).

Sodio fosfato monobasico. 1080100. [13472-35-0]. Vedere la monografia *Sodio fosfato monobasico diidrato* (0194).

Sodio fosfato monobasico anidro. NaH_2PO_4 . (M_r 120,0). 1080200. [7558-80-7].

Polvere bianca, igroscopica.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio fosfato monobasico monoidrato. $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$. (M_r 138,0). 1080300. [10049-21-5].

Cristalli leggermente deliquescenti o granuli, bianchi, molto solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio fosfato tribasico dodecaidrato. $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$. (M_r 380,1). 1094300. [10101-89-0].

Cristalli incolori o bianchi, molto solubili in acqua.

Sodio fosfito pentaidrato. $Na_2HPO_3 \cdot 5H_2O$. (M_r 216,0). 1132200. [13517-23-2].

Polvere cristallina bianca, igroscopica, molto solubile in acqua.

Conservare in un contenitore ermeticamente chiuso.

Sodio glucuronato. $C_6H_9NaO_7 \cdot H_2O$. (M_r 234,1). 1080900. Sodio *D*-glucuronato monoidrato.

$[\alpha]_D^{20}$: circa + 21,5, determinato su una soluzione 20 g/l.

Sodio idrogeno solfato. $NaHSO_4$. (M_r 120,1). 1131900. [7681-38-1]. Sodio bisolfato.

Molto solubile in acqua, solubilissimo in acqua bollente. Si decompone in alcool, nel sodio solfato e in acido solforico libero.

p.f.: circa 315 °C.

Sodio idrogenosolfato. $NaHO_3S$. (M_r 104,1). 1115700. [7631-90-5].

Polvere cristallina bianca, molto solubile in acqua, moderatamente solubile in alcool.

Per esposizione all'aria si perde una parte dello zolfo diossido e la sostanza è gradualmente ossidata a solfato.

Sodio 2-idrossibutirato. $C_4H_7NaO_3$. (M_r 126,1). 1158800. [19054-57-0]. Sodio (2 *RS*)-2-idrossibutanoato.

Sodio idrossido. 1081400. [1310-73-2]. Vedere la monografia *Sodio idrossido* (0677).

Sodio idrossido soluzione. 1081401.

Disciogliere 20,0 g di *sodio idrossido R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Verificare la concentrazione per titolazione con *acido cloridrico 1 M*, usando *metilarancio soluzione R* come indicatore, e aggiustare ad una concentrazione di 200 g/l, se necessario.

Sodio idrossido soluzione concentrata. 1081404.

Disciogliere 42 g di *sodio idrossido R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Sodio idrossido soluzione diluita. 1081402.

Disciogliere 8,5 g di *sodio idrossido R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Sodio idrossido soluzione metanolica. 1081403.

Disciogliere 40 mg di *sodio idrossido R* in 50 ml di *acqua R*. Raffreddare ed aggiungere 50 ml di *metanolo R*.

Sodio idrossido soluzione metanolica R1. 1081405.

Disciogliere 200 mg di *sodio idrossido R* in 50 ml di *acqua R*. Raffreddare e aggiungere 50 ml di *metanolo R*.

Sodio ioduro. 1081800. [7681-82-5]. Vedere la monografia *Sodio ioduro* (0196).

Sodio ipobromito soluzione. 1081500.

In un bagno di acqua ghiacciata mescolare 20 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* e 500 ml di *acqua R*, aggiungere 5 ml di *bromo soluzione R* e porre sotto leggera agitazione fino a completa dissoluzione. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Sodio ipoclorito soluzione concentrata. 1081600.

Contiene non meno di 25 g/l e non più di 30 g/l di cloro attivo.

Liquido giallastro che dà reazione alcalina.

Determinazione quantitativa. Introdurre in un recipiente, consecutivamente, 50 ml di *acqua R*, 1 g di *potassio ioduro R* e 12,5 ml di *acido acetico diluito R*. Diluire 10,0 ml della sostanza in esame a 100,0 ml con *acqua R*. Introdurre 10,0 ml di questa soluzione nel recipiente e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, usando 1 ml di *amido soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 3,546 mg di cloro attivo.

Conservare al riparo dalla luce.

Sodio ipofosfito. $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. (M_r 106,0). 1081700. [10039-56-2]. Sodio fosfinato monoidrato.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, igroscopici, molto solubili in acqua, solubili in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio iposolfito. Vedere *sodio tiosolfato R*.

Sodio laurilsolfato. 1081900. [151-21-3]. Vedere la monografia *Sodio laurilsolfato* (0098).

Sodio laurilsolfonato per cromatografia. $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_3\text{S}$. (M_r 272,4). 1132000. [2386-53-0].

Polvere o cristalli bianchi o quasi bianchi, molto solubile in acqua.

Assorbanza (2.2.25):

$A_{1\text{cm}}^{5\%}$: circa 0,05 a 210 nm,

$A_{1\text{cm}}^{5\%}$: circa 0,03 a 220 nm,

$A_{1\text{cm}}^{5\%}$: circa 0,02 a 230 nm,

$A_{1\text{cm}}^{5\%}$: circa 0,02 a 500 nm,

determinata in *acqua R*.

Sodio metabisolfito. 1082000. [7681-57-4]. Vedere la monografia *Sodio metabisolfito* (0849).

Sodio metansolfonato. $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{Na}$. (M_r 118,1). 1082100. [2386-57-4].

Polvere cristallina bianca, igroscopica.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio molibdato. $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. (M_r 242,0). 1082200. [10102-40-6]. Disodio molibdato diidrato.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, molto solubili in acqua.

Sodio molibdofosfotungstato soluzione. Reattivo di Folin-Dénis.

Bollire a ricadere, per 2 h, una miscela di 350 ml di *acqua R*, 50 g di *sodio tungstato R*, 12 g di *acido fosfomolibdico R* e 25 ml di *acido fosforico R*. Raffreddare e diluire a 500 ml con *acqua R*.

Sodio naftochinonsolfonato. $\text{C}_{10}\text{H}_5\text{NaO}_5\text{S}$. (M_r 260,2). 1082300. [521-24-4]. Sodio 1,2-naftochinon-4-solfonato.

Polvere cristallina da gialla a gialla arancione, molto solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool.

Sodio naftochinonsolfonato soluzione. Soluzione acquosa (5 g/l) di *sodio naftochinonsolfonato R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Sodio naftol-disolfonato. $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7\text{S}_2$. (M_r 348,3). Sale R, 2-naftol-3,6-disolfonato di sodio.

Cristalli o granuli bianchi o grigiastri, solubili in acqua, insolubili in alcool. La soluzione acquosa è neutra al tornasole.

Sodio nitrato. NaNO_3 . (M_r 85,0). 1082400. [7631-99-4].

Polvere bianca granuli o cristalli trasparenti, incolori, deliquescenti in aria umida, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio nitrito. NaNO_2 . (M_r 69,0). 1082500. [7632-00-0].

Contiene non meno del 97,0 per cento di NaNO_2 .

Polvere granulata bianca o polvere cristallina leggermente gialla, molto solubile in acqua.

Sodio nitrito soluzione. 1082501.

Soluzione 100 g/l. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Sodio nitroprussiato. $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. (M_r 298,0). 1082600. [13755-38-9]. Sodio pentacianonitrosilferrato(III) diidrato.

Polvere bruno-rossastra o cristalli, molto solubili in acqua, poco solubili in alcool.

Sodio ossalato. $\text{C}_2\text{Na}_2\text{O}_4$. (M_r 134,0). 1082900. [62-76-0].

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool e in etere.

Sodio ottansolfonato. $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NaO}_3\text{S}$. (M_r 216,3) 1082700. [5324-84-5].

Contiene non meno del 98,0 per cento di $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NaO}_3\text{S}$.

Polvere cristallina o fiocchi, bianchi o quasi bianchi, molto solubili in acqua, solubili in metanolo.

Assorbanza. L'assorbanza (2.2.25) di una soluzione 54 g/l misurata a 200 nm non è superiore a 0,10 e quella misurata a 250 nm non è superiore a 0,01.

Sodio ottilsolfato. $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NaO}_4\text{S}$. (M_r 232,3) 1082800. [142-31-4].

Polvere cristallina o fiocchi, bianchi o quasi bianchi, molto solubili in acqua, solubili in metanolo.

Sodio pentansolfonato. $C_5H_{11}NaO_3S$. (M_r 174,2) 1083000. [22767-49-3].

Solido cristallino bianco, solubile in acqua.

Sodio pentansolfonato monoidrato. $C_5H_{11}NaO_3S \cdot H_2O$. (M_r 192,2). 1132100.

Solido cristallino bianco, solubile in acqua.

Sodio perclorato. $NaClO_4 \cdot H_2O$. (M_r 140,5) 1083100. [7791-07-3].

Contiene non meno del 99,0 per cento di $NaClO_4 \cdot H_2O$. Cristalli deliquescenti bianchi, solubilissimi in acqua.

Conservare in un recipiente ben chiuso.

Sodio periodato. $NaIO_4$. (M_r 213,9). 1083200. [7790-28-5]. Sodio metaperiodato.

Contiene non meno del 99,0 per cento di $NaIO_4$.

Polvere cristallina bianca o cristalli bianchi, solubili in acqua e negli acidi minerali.

Sodio periodato soluzione. 1083201.

Disciogliere 1,07 g di *sodio periodato R* in *acqua R*, aggiungere 5 ml di *acido solforico diluito R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Usare una soluzione preparata di recente.

Sodio picrato soluzione alcalina. 1083300.

Mescolare 20 ml di *acido picrico soluzione R* e 10 ml di una soluzione (50 g/l) di *sodio idrossido R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Usare entro 2 giorni dalla preparazione.

Sodio pirofosfato. $Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$. (M_r 446,1) 1083600. [13472-36-1]. Tetrasodio difosfato decaidrato.

Cristalli leggermente efflorescenti, incolori, molto solubili in acqua.

Sodio pirosolfito. Vedere *sodio metabisolfito R*.

Sodio potassio tartrato. Vedere *sodio e potassio tartrato R*.

Sodio rodizonato. $C_6Na_2O_6$. (M_r 214,0). 1122300. [523-21-7]. [(3,4,5,6-tetraossocicloes-1-en-1,2-ilen)diossi]disodio.

Cristalli violetti, solubili in acqua con un colore giallorancione. Le soluzioni sono instabili e devono essere preparate il giorno stesso dell'utilizzo.

Sodio salicilato. 1083700. [54-21-7]. Vedere la monografia *Sodio salicilato* (0413).

Sodio solfato. Vedere la monografia *Sodio solfato decaidrato* (0100).

Sodio solfato anidro. 1083800. [7757-82-6].

Calcinare a 600-700 °C il sodio solfato anidro che soddisfa ai requisiti prescritti nella monografia *Sodio solfato anidro* (0099).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,5 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 130 °C.

Sodio solfato decaidrato. $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$. (M_r 322,2). 1132300. [7727-73-3]. Vedere la monografia *Sodio solfato decaidrato* (0100).

Sodio solfito. 1084000. [10102-15-5]. Vedere la monografia *Sodio solfito eptaidrato* (0776).

Sodio solfito anidro. 1084100. [7757-83-7]. Vedere la monografia *Sodio solfito anidro* (0775).

Sodio solfuro. $Na_2S \cdot 9H_2O$. (M_r 240,2). 1083900. [1313-84-4]. Disodio solfuro nonaidrato.

Cristalli incolori che ingialliscono rapidamente, deliquescenti, solubilissimi in acqua.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio solfuro soluzione. 1083901.

Disciogliere, scaldando, 12 g di *sodio solfuro R* in 45 ml di una miscela di 10 volumi di *acqua R* e 29 volumi di *glicerolo 85 per cento R*, lasciar raffreddare e diluire a 100 ml con la stessa miscela di solventi.

La soluzione deve essere incolore.

Sodio tartrato. $C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2H_2O$. (M_r 230,1) 1084200. [6106-24-7]. Disodio (2*R*,3*R*)-2,3-diidrossibutandioato diidrato.

Cristalli o granuli bianchi, solubilissimi in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Sodio tetraborato. 1033600. [1303-96-4]. Vedere la monografia *Borace* (0013).

Sodio tetra deuteriodimetilsilapentanoato.

$C_6H_9^2H_4NaO_2Si$. (M_r 172,3). 1084300. TSP. Sodio (2,2,3,3-tetra deuterio)-4,4-dimetil-4-silapentanoato.

Il grado di deuteroazione non è inferiore al 99 per cento. Polvere cristallina bianca, molto solubile in acqua, in etanolo e in metanolo.

p.f.: circa 300 °C.

Acqua e deuterio ossido. Non più dello 0,5 per cento.

Sodio tetrafenilborato. $NaB(C_6H_5)_4$. (M_r 342,2). 1084400. [143-66-8].

Polvere consistente, bianca o leggermente giallastra, molto solubile in acqua e in acetone.

Sodio tetrafenilborato soluzione. 1084401.

Filtrare prima dell'uso, se necessario.

Soluzione 10 g/l.

Usare entro 1 settimana.

Sodio tioglicolato. $C_2H_3NaO_2S$. (M_r 114,1). 1084500. [367-51-1]. Sodio mercaptoacetato.

Povere granulare o cristalli bianchi, igroscopici, molto solubili in acqua e in metanolo, poco solubili in alcool.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Sodio tiosolfato. 1084600. [10102-17-7]. Vedere la monografia *Sodio tiosolfato* (0414).

Sodio tungstato. $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$. (M_r 329,9). 1084700. [10213-10-2]. Disodio tungstato diidrato.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, molto solubili in acqua dando luogo ad una soluzione limpida, praticamente insolubile in alcool.

Solfato dipotassico. Vedere *potassio solfato R*.

Solfato monopotassico. Vedere *potassio idrogenosolfato R*.

Solfo diossido. Vedere *anidride solforosa R*.

Solfocromica miscela. Vedere *miscela solfocromica R*.

Solfomolibdico reattivo R2. 1086400.

Disciogliere circa 50 mg di *ammonio molibdato R* in 10 ml di *acido solforico R*.

Solfomolibdico reattivo R3. 1086500.

Disciogliere, scaldando, 2,5 g di *ammonio molibdato R* in 20 ml di *acqua R*. Diluire 28 ml di *acido solforico R* in 50 ml di *acqua R*, poi raffreddare. Mescolare le due soluzioni e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Conservare in un recipiente di polietilene.

Soluzione bloccante. 1122400. Una soluzione 10 per cento V/V di *acido acetico R*.

Soluzione borica. 1033601. Borato soluzione.

Disciogliere 9,55 g di *sodio tetraborato R* in *acido solforico R*, scaldando a b.m., e diluire a 1 litro con lo stesso acido.

Soluzione colorante di Coomassie. 1012201.

Una soluzione (1,25 g/l) di *blu acido 83 R* in una miscela consistente di 1 volume di *acido acetico glaciale R*, 4 volumi di *metanolo R* e 5 volumi di *acqua R*. Filtrare.

Soluzione cupri-citrica. Vedere *cupri-citrica soluzione R*

Soluzione cupri-tartarica. Vedere *cupri-tartarica soluzione R*

Soluzione cupro-. vedere *soluzione cupri-*

Soluzione di decolorazione. 1012202.

Una miscela consistente di 1 volume di *acido acetico glaciale R*, 4 volumi di *metanolo R* e 5 volumi di *acqua R*.

Soluzione di sviluppo. 1122500.

Diluire 2,5 ml di una soluzione (20 g/l) di *acido citrico R* e 0,27 ml di *formaldeide R* a 500,0 ml con *acqua R*.

Soluzione diluente per ialuronidasi. Vedere *diluente per ialuronidasi R*.

Soluzione elementare standard per la spettrometria atomica 1,000 g/l. 5004000.

Questa soluzione è preparata, generalmente in condizioni acide, dall'elemento o da un sale dell'elemento che ha un contenuto minimo non inferiore al 99,0 per cento. La quantità per litro della soluzione è maggiore di 0,995 g durante il periodo di garanzia, durante il quale il flacone non è stato aperto. Il materiale di partenza (elemento o sale) e le caratteristiche del solvente finale (natura e acidità, ecc.) sono indicate nell'etichetta.

Soluzione fisiologica tamponata a pH 7,2. Vedere *Soluzioni tampone (4.1.3)*.

Soluzione fissante. 1122600.

A 250 ml di *metanolo R* aggiungere 0,27 ml di *formaldeide R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Soluzione fissante per focalizzazione isoelettrica in gel di poliacrilammide. 1138700.

Soluzione contenente 35 g di *acido solfosalicilico R* e 100 g di *acido tricloroacetico R* per litro di *acqua R*.

Soluzione per il saggio di risoluzione della cromatografia su strato sottile. 1116600.

Preparare una miscela di 1,0 ml di ciascuna delle seguenti soluzioni e diluire a 10,0 ml con *acetone R*: una soluzione (0,5 g/l) di *rosso Sudan G R* in *toluene R*, una soluzione (0,5 g/l) di *metilarancio R* in *etanolo R* preparata immediatamente prima dell'uso, una soluzione (0,5 g/l) di *verde bromocresolo R* in *acetone R* e una soluzione (0,25 g/l) di *rosso metile R* in *acetone R*.

Soluzione salina tamponata... Vedere *Soluzioni tampone (4.1.3)*.

Soluzione standard per la microdeterminazione dell'acqua. 5003700.

Soluzione standard, disponibile in commercio, per la titolazione coulombometrica dell'acqua, con un contenuto certificato di acqua in un solvente idoneo.

Soluzione tamponata di acetone. Vedere *Soluzioni tampone (4.1.3)*, "acetone soluzione tamponata R".

Soluzione tampone per l'aggiustamento della forza ionica totale pH 5,0-5,5. Vedere *Soluzioni tampone (4.1.3)*. "tampone per l'aggiustamento della forza ionica totale pH 5,0-5,5 R".

Soluzioni per il saggio di prestazione della cromatografia su carta. 1150800.

Soluzione in esame (a). Usare *Sodio pertecnetato (^{99m}Tc) ottenuto per fissione preparazione iniettabile (0124)* o *Sodio pertecnetato (^{99m}Tc) non ottenuto per fissione (0283) preparazione iniettabile*.

Soluzione in esame (b). In una fiala chiusa mescolare 100 µl di una soluzione (5g/l) di *cloruro stannoso R* in *acido cloridrico 0,05 M* e 100 MBq - 200 MBq di *Sodio pertecnetato (^{99m}Tc) ottenuto per fissione preparazione iniettabile (0124)* o *Sodio pertecnetato (^{99m}Tc) non ottenuto per fissione preparazione iniettabile (0283)* in un volume non superiore di 2 ml.

Sorbitolo. 1084800. [50-70-4]. Vedere la monografia *Sorbitolo (0435)*.

Sostituto piastrinico. 1066400.

A 0,5-1 g di *fosfolipidi R* aggiungere 20 ml di *acetone R* e lasciare a riposo per 2 h agitando di frequente. Centrifugare per 2 min e scartare il liquido soprannatante. Secare il residuo utilizzando una pompa a vuoto, mescolare con 20 ml di *cloroformio R* ed agitare per 2 h. Filtrare sotto vuoto e sospendere il residuo ottenuto in 5-10 ml di una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*.

Per l'uso nel dosaggio del fattore IX, preparare una diluizione in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo tale che tra diluizioni consecutive della preparazione di riferimento vi siano differenze di tempi di coagulazione di circa 10 s.

Conservare le sospensioni diluite a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ed usare entro 6 settimane.

Squalano. $\text{C}_{30}\text{H}_{62}$. (M_r 422,8). 1084900. [111-01-3]. 2,6,10,15,19,23-Esametil-tetracosano.

Liquido oleoso, incolore, molto solubile in etere e negli oli grassi, poco solubile in acetone, in alcool, in acido acetico glaciale ed in metanolo.

d_{20}^{20} : da 0,811 a 0,813.

n_D^{20} : da 1,451 a 1,453.

Staccio molecolare. Vedere *setaccio molecolare R*.

Stagno. Sn. (A_r 118,7). 1090800. [7440-31-5].

Granuli bianco-argentei, solubili in acido cloridrico con rilascio di idrogeno.

Arsenico (2.4.2). 0,1 g soddisfano al saggio limite A per l'arsenico (10 ppm).

Stagno(-oso) cloruro. $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. (M_r 225,6). 1085000. [10025-69-1]. Stagno dicloruro diidrato.

Contiene non meno del 97,0 per cento di $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Cristalli incolori, solubilissimi in acqua, molto solubili in alcool, in acido acetico glaciale e in acido cloridrico diluito e concentrato.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 0,500 g in 15 ml di *acido cloridrico R* in una beuta con tappo a smeriglio. Aggiungere 10 ml di *acqua R* e 5 ml di *cloroformio R*. Titolare rapidamente con *potassio iodato 0,05 M* finché lo strato cloroformico sia incolore.

1 ml di *potassio iodato 0,05 M* equivale a 22,56 mg di $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Stagno(-oso) cloruro soluzione. 1085001.

Scaldare 20 g di *stagno R* con 85 ml di *acido cloridrico R* finché non sia più rilasciato idrogeno. Lasciar raffreddare.

Conservare la soluzione su un eccesso di *stagno R*, al riparo dall'aria.

Stagno(-oso) cloruro soluzione R1. 1085002.

Immediatamente prima dell'uso, diluire 1 volume di *stagno(-oso) cloruro soluzione R* con 10 volumi di *acido cloridrico diluito R*.

Stagno(-oso) cloruro soluzione R2. 1085003.

A 8 g di *stagno(-oso) cloruro R* aggiungere 100 ml di una soluzione di *acido cloridrico R* al 20 per cento *V/V*. Agitare fino a dissoluzione, scaldando, se necessario, a b.m. a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Far passare una corrente di *azoto R* per 15 min. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Staphylococcus aureus ceppo V8 proteasi. Tipo XVII-B. 1115800. [66676-43-5].

Enzima proteolitico microbico extracellulare. Polvere liofilizzata contenente da 500 unità a 1000 unità per milligrammo di solido.

Stirene. C_8H_8 . (M_r 104,2). 1151700. [100-42-5]. Etenilbenzene.

p.e.: circa $145\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Liquido oleoso, incolore, molto poco solubile in acqua.

Stirene-divinilbenzene copolimero. 1085500.

Globuli di polimero reticolato incrociati, rigidi, porosi. Sono disponibili numerose qualità con differente dimensione delle particelle. La dimensione delle particelle è specificata dopo il nome del reattivo nel saggio in cui viene usato.

Streptomicina solfato. 1085300. [3810-74-0]. Vedere la monografia *Streptomicina solfato (0053)*.

Strisce per il saggio di perossido. 1147800.

Strisce per saggio di uso commerciale. Usare strisce disponibili in commercio con un'appropriata scala nell'intervallo da 0 ppm a 25 ppm di perossido.

Stronzio carbonato. SrCO_3 . (M_r 147,6). 1122700. [1633-05-2].

Polvere cristallina bianca.

Contiene non meno del 99,5 per cento di SrCO_3 .

Stronzio idrossido. $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$. (M_r 265,8).

Polvere bianca, cristallina scorrevole - Moderatamente solubile in acqua. Assorbe anidride carbonica dall'aria.

Deve contenere non meno del 95,0 per cento di stronzio idrossido ($\text{Sr}(\text{HO})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) e non più del 3,0 per cento di stronzio carbonato (SrCO_3).

Determinazione quantitativa. In una beuta con tappo a smeriglio, disciogliere 5,0 g circa, esattamente pesati, in 200 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*.

Titolare con *acido cloridrico 1 M* in presenza di *fenolftaleina soluzione R*.

Aggiungere quindi *metilarancio soluzione R* e titolare con *acido cloridrico 1 M*. Ogni ml di *acido cloridrico 1 M* richiesto nella titolazione in presenza di *fenolftaleina soluzione R* corrisponde a 132,9 mg di $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ e ogni ml di *acido cloridrico 1 M* richiesto nell'ulteriore titolazione in presenza di *metilarancio soluzione R* corrispondente a 73,8 mg di SrCO_3 .

Substrato cromoforo R1. 1020000.

Disciogliere *N- α -benzilossicarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina p-nitroanilide dicloridrato* in *acqua R* per ottenere una soluzione 0,003 M. Diluire prima dell'uso in *tampone tris(idrossimetil)amminometano-EDTA soluzione a pH 8,4 R* fino ad avere una soluzione 0,0005 M.

Substrato cromoforo R2. 1020100.

Disciogliere D-fenilalanil-piperazina-arginina *p*-nitroanilide dicloridrato in *acqua R* per ottenere una soluzione 0,003 M. Diluire prima dell'uso in *tampone tris (idrossimetil)amminometano-EDTA-soluzione a pH 8,4 R* fino ad avere una soluzione 0,0005 M.

Substrato cromoforo R3. 1149100.

Disciogliere D-valil-leucil-lisil-4-nitroanilide cloridrato in *acqua R* per ottenere una soluzione 0,003 M.

Substrato di plasma. Vedere *plasma substrato R*.

Succo gastrico artificiale. 1039900.

Disciogliere 2,0 g di *sodio cloruro R* e 3,2 g di *pepsina polvere R* in *acqua R*. Aggiungere 80 ml di *acido cloridrico 1 M* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Sulfanilammide. C₆H₈N₂O₂S. (M_r 172,2). 1086100. [63-74-1]. 4-Amminobenzensolfonammide.

Polvere bianca, poco solubile in acqua, molto solubile in acqua bollente, in acetone, negli acidi diluiti e nelle soluzioni di idrossidi alcalini, moderatamente solubile in alcool, in etere e in etere di petrolio.

p.f.: circa 165 °C.

Sulfati azolo. C₉H₉N₃O₂S₂. (M_r 255,3). 1086300. [72-14-0]. 4-Ammino-*N*-(tiazol-2-il)benzensolfonammide.

Polvere o cristalli bianchi o bianco-giallastri, molto poco solubili in acqua, solubili in acetone, poco solubili in alcool. Si scioglie negli acidi minerali diluiti e nelle soluzioni di idrossidi e carbonati alcalini.

p.f.: circa 200 °C.

Tagatosio. C₆H₁₂O₆. (M_r 180,16). 1111000. [87-81-0]. D-*lixo*-Essulosio.

Polvere bianca.

[α]_D²⁰: - 2,3 (soluzione 21,9 g/l in *acqua R*).

p.f.: da 134 °C a 135 °C.

Talco. 1087000. [14807-96-6]. Vedere la monografia *Talco (0438)*.

Tallio(-oso) solfato. Tl₂SO₄. (M_r 504,8). 1089100. [7446-18-6]. Ditallio solfato.

Prismi romboidali bianchi, poco solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Tannino. Vedere *acido tannico R*.

Tebaina. C₁₉H₂₁NO₃. (M_r 311,4). 1089200. [115-37-7]. (5*R*,9*R*,13*S*)-4,5-Epossio-3,6-dimetossio-9*a*-metilmorfin-6,8-diene.

Polvere cristallina bianca o giallo pallido, molto poco solubile in acqua, solubile in etanolo caldo e in toluene, poco solubile in etere.

p.f.: circa 193 °C.

Cromatografia (2.2.27). Esaminare come prescritto nel saggio di identificazione **B** nella monografia *Oppio (0777)*, deponendo sulla lastra in forma di bande

(20 mm × 3 mm) 20 μl di una soluzione 0,5 g/l. Il cromatogramma ottenuto presenta una macchia principale di colore rosso-arancione o rosso con un *R_f* di circa 0,5.

Tecnazene. C₆HCl₄NO₂. (M_r 260,9). 1132400. [117-18-0].

p.f.: da 99 °C a 100 °C.

p.e.: circa 304 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in cicloesano).

Teobromina. 1138800. [83-67-0]. Vedere la monografia *Teobromina (0298)*.

Teofillina. 1089300. [58-55-9]. Vedere la monografia *Teofillina (0229)*.

α-Terpinene. C₁₀H₁₆. (M_r 136,2). 1140300. [99-86-5]. 1-Isopropil-4-metilcicloesa-1,3-diene.

Liquido chiaro, quasi incolore.

*d*₄²⁰: circa 0,837.

*n*_D²⁰: circa 1,478.

p.e.: circa 174 °C.

L'α-terpinene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Melaleuca essenza (1837)*.

Il contenuto non è inferiore al 95 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

γ-Terpinene. C₁₀H₁₆. (M_r 136,2). 1115900. [99-85-4]. 1-Isopropil-4-metilcicloesa-1,4-diene.

Liquido oleoso.

*d*₄¹⁵: circa 0,850.

*n*_D¹⁵: da 1,474 a 1,475.

p.e.: da 183 °C a 186 °C.

Il γ-terpinene usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza (0405)*.

Soluzione in esame. La sostanza da esaminare.

L'area del picco principale non è inferiore al 93,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto.

4-Terpinenolo. C₁₀H₁₈O. (M_r 154,2). 1116000. [562-74-3]. 4-Metil-1-(1-metiletil)cicloes-3-en-1-olo. *p*-Ment-1-en-4-olo.

Liquido incolore oleoso.

*d*₂₀²⁰: circa 0,934.

*n*_D²⁰: circa 1,477.

p.e.: da 209 °C a 212 °C.

Il 4-terpinenolo usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Lavanda essenza* (1338).

Soluzione in esame. La sostanza da esaminare.

L'area del picco principale non è inferiore al 98,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto.

α -Terpineolo. $C_{10}H_{18}O$. (M_r 154,2).1087300. [98-55-5]. (RS)-2-(4-Metil-3-cicloesenil)-2-propanolo.

Cristalli incolori, praticamente insolubili in acqua, solubili in alcool ed in etere.

d_{20}^{20} : circa 0,935

n_D^{20} : circa 1,483

$[\alpha]_D^{20}$: circa 92,5

p.f.: circa 35 °C.

Può contenere dall'1 per cento al 3 per cento di β -terpineolo.

L' α -terpineolo usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) nelle condizioni descritte nella monografia *Anice essenza* (0804).

Soluzione in esame. Soluzione 100 g/l in esano R.

L'area del picco principale non è inferiore al 97,0 per cento dell'area totale dei picchi. Trascurare il picco dovuto all'esano.

Terpinolene. $C_{10}H_{16}$. (M_r 136,2). 1140400. [586-62-9]. *p*-Menta-1,4(8)-diene. 4-Isopropiliden-1-metilcicloesene.

Liquido chiaro, quasi incolore.

d_4^{20} : circa 0,863.

n_D^{20} : circa 1,488.

p.e.: circa 184 °C.

Il terpinolene utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Melaleuca essenza* (1837).

Il contenuto non è inferiore al 90 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Terra d'infusori. 1025900. [91053-39-3].

Polvere granulare fine bianca o quasi bianca, costituita da frustoli silicei di diatomee fossili o da frammenti di diatomee fossili, praticamente insolubile in acqua, in alcool ed in etere. La sostanza può essere identificata mediante esame microscopico con un ingrandimento di 500 volte.

Terra d'infusori per gas cromatografia. 1026000.

Polvere granulare fine bianca o quasi bianca, costituita da frustoli silicei di diatomee fossili o da frammenti di diatomee fossili, praticamente insolubile in acqua, in alcool ed in etere. La sostanza può essere identificata

mediante esame microscopico con un ingrandimento di 500 volte. La sostanza è purificata per trattamento con *acido cloridrico R* e lavaggio con *acqua R*.

Dimensione delle particelle. Non più del 5 per cento è trattenuto su un setaccio No. 180. Non più del 10 per cento passa attraverso un setaccio No. 125.

Terra d'infusori per gas cromatografia R1. 1026100.

Polvere granulare fine bianca o quasi bianca, costituita da frustoli silicei di diatomee fossili o da frammenti di diatomee fossili, praticamente insolubile in acqua, in alcool ed in etere. La sostanza può essere identificata mediante esame microscopico con un ingrandimento di 500 volte. La sostanza è purificata per trattamento con *acido cloridrico R* e lavaggio con *acqua R*.

Dimensione delle particelle. Non più del 5 per cento è trattenuto su un setaccio No. 250. Non più del 10 per cento passa attraverso un setaccio No. 180.

Terra d'infusori per gas cromatografia R2. 1026200.

Polvere granulare fine bianca o quasi bianca con una area superficiale specifica di circa 0,5 m²/g, costituita da frustoli silicei di diatomee fossili o da frammenti di diatomee fossili, praticamente insolubile in acqua, in alcool ed in etere. La sostanza può essere identificata mediante esame microscopico con un ingrandimento di 500 volte. La sostanza è purificata per trattamento con *acido cloridrico R* e lavaggio con *acqua R*.

Dimensione delle particelle. Non più del 5 per cento è trattenuto su un setaccio No. 180. Non più del 10 per cento passa attraverso un setaccio No. 125.

Terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia. 1026300.

Terra d'infusori per gas cromatografia R silanizzata con dimetildiclorosilano o altri agenti silanizzanti idonei.

Terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R1. 1026400.

Preparata da mattoni refrattari rosa triturati e silanizzata con dimetildiclorosilano o altri agenti silanizzanti idonei. La sostanza è purificata per trattamento con *acido cloridrico R* e lavaggio con *acqua R*.

Testosterone. 1116100. [58-22-0]. Vedere la monografia *Testosterone* (1373).

Testosterone propionato. 1087400. [57-85-2]. Vedere la monografia *Testosterone propionato* (0297).

Tetrabuttilammonio bromuro. $C_{16}H_{36}BrN$. (M_r 322,4). 1087500. [1643-19-2].

Cristalli bianchi o quasi bianchi.

p.f.: da 102 °C a 104 °C.

Tetrabuttilammonio diidrogeno fosfato. $C_{16}H_{38}NO_4P$. (M_r 339,5). 1087600. [5574-97-0].

Polvere bianca, igroscopica.

pH (2.2.3). Una soluzione 170 g/l ha un *pH* di circa 7,5.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza di una soluzione 170 g/l, determinata a 210 nm è di circa 0,10.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Tetrabuttilammonio idrogeno solfato. $C_{16}H_{37}NO_4S$. (M_r 339,5). 1087700. [32503-27-8].

Polvere cristallina o cristalli incolori, molto solubili in acqua ed in metanolo.

p.f.: da 169 °C a 173 °C.

Assorbanza (2.2.25). L'assorbanza di una soluzione 50 g/l, ad una lunghezza d'onda compresa tra 240 nm e 300 nm, non è superiore a 0,05.

Tetrabuttilammonio idrossido. $C_{16}H_{37}NO.30H_2O$. (M_r 800). 1087800. [2052-49-5].

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{16}H_{37}NO.30H_2O$.

Cristalli bianchi o quasi bianchi, solubili in acqua.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 1,000 g in 100 ml di *acqua R*. Titolare immediatamente con *acido cloridrico 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 80,0 mg di $C_{16}H_{37}NO.30H_2O$.

Tetrabuttilammonio idrossido soluzione (400 g/l). 1087802. [2052-49-5].

Soluzione contenente 400 g/l di $C_{16}H_{37}NO$ (M_r 259,5), preparata per diluizione di un reattivo di qualità idonea.

Tetrabuttilammonio idrossido soluzione (104 g/l). 1087801.

Soluzione contenente 104 g/l di $C_{16}H_{37}NO$ (M_r 259,5), preparata per diluizione di un reattivo di qualità idonea.

Tetrabuttilammonio ioduro. $C_{16}H_{36}IN$. (M_r 369,4). 1087900. [311-28-4].

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{16}H_{36}IN$.

Polvere cristallina o cristalli bianchi o leggermente colorati, solubili in alcool.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,02 per cento.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 1,200 g in 30 ml di *acqua R*. Aggiungere 50,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 5 ml di *acido nitrico diluito R*. Titolare l'eccesso di argento nitrato con *ammonio tiocianato 0,1 M*, usando 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 36,94 mg di $C_{16}H_{36}IN$.

Tetracloroetano. $C_2H_2Cl_4$. (M_r 167,9). 1088000. [79-34-5]. 1,1,2,2-Tetracloroetano.

Liquido incolore limpido, poco solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,59.

n_D^{20} : circa 1,495.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 145 °C e 147 °C.

Tetraclorinfos. $C_{10}H_9Cl_4O_4P$. (M_r 366,0). 1132500. [22248-79-9].

p.f.: circa 95 °C.

Può essere utilizzata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

Tetradecano. $C_{14}H_{30}$. (M_r 198,4). 1088200. [629-59-4]. *n*-Tetradecano.

Contiene non meno del 99,5 per cento *m/m* di $C_{14}H_{30}$.

Liquido incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,76.

n_D^{20} : circa 1,429.

p.e.: circa 252 °C.

p.f.: circa -5 °C.

Tetradecilammonio bromuro. $C_{40}H_{84}BrN$. (M_r 659). 1088300. [14937-42-9]. Tetrakis(decil)ammonio bromuro.

Polvere cristallina o cristalli bianchi o leggermente colorati.

p.f.: da 88 °C a 89 °C.

Tetraeptilammonio bromuro. $C_{28}H_{60}BrN$. (M_r 490,7). 1088400. [4368-51-8].

Polvere cristallina o cristalli, bianchi o leggermente colorati.

p.f.: da 89 °C a 91 °C.

Tetraesilammonio idrogenosolfato. $C_{24}H_{53}NO_4S$.

(M_r 451,8). 1116300. [32503-34-7]. *N,N,N*-Triesilesan-1-amminio idrogenosolfato.

Cristalli bianchi.

p.f.: da 100 °C a 102 °C.

Tetraetilammonio idrogenosolfato. $C_8H_{21}NO_4S$. (M_r 227,3). 1116200. [16873-13-5].

Polvere igroscopica.

p.f.: 245 °C circa.

Tetraetilammonio idrossido soluzione. $C_8H_{21}NO$. (M_r 147,3). 1100300. [77-98-5].

La soluzione 200 g/l è un liquido incolore, fortemente alcalino.

d_{20}^{20} : circa 1,01.

n_D^{20} : circa 1,372.

Qualità HPLC.

Tetraetilene pentammina. $C_8H_{23}N_5$. (M_r 189,3). 1102000. [112-57-2]. 3,6,9-Triazaundecan-1,11-diammina.

Liquido incolore, solubile in acetone.

n_D^{20} : circa 1,506.

Conservare al riparo dall'umidità e dal calore.

Tetraidrofurano. C_4H_8O . (M_r 72,1). 1088500. [109-99-9]. Tetrametilene ossido.

Liquido infiammabile incolore, limpido, miscibile con acqua, con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,89.

Non distillare se il tetraidrofurano non soddisfa al saggio dei perossidi.

Perossidi. Porre 8 ml di *potassio ioduro e amido soluzione R* in un cilindro con tappo a smeriglio da 12 ml, del diametro di circa 1,5 cm. Riempire completamente con la sostanza in esame, agitare vigorosamente e lasciare a riposo proteggendo dalla luce per 30 min. Non appare alcuna colorazione.

Il tetraidrofurano utilizzato in spettrofotometria soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25) determinata usando acqua R come bianco:

20 per cento a 255 nm,

80 per cento a 270 nm,

98 per cento a 310 nm.

Tetrametilammonio cloruro. $C_4H_{12}ClN$. (M_r 109,6). 1100400. 75-57-0.

Cristalli incolori, solubili in acqua e in alcool.

p.f.: circa 300 °C, con decomposizione.

Tetrametilammonio idrogenosolfato. $C_4H_{13}NO_4S$. (M_r 171,2). 1116400. [80526-82-5].

Polvere igroscopica.

p.f.: circa 295 °C.

Tetrametilammonio idrossido. $C_4H_{13}NO \cdot 5H_2O$. (M_r 181,2). 1122800. [10424-65-4]. Tetrametilammonio idrossido pentaidrato.

Qualità adatta per HPLC.

Tetrametilammonio idrossido soluzione. 1088600. [75-59-2].

Contiene non meno del 10,0 per cento *m/m* di $C_4H_{13}NO$ (M_r 91,2).

Liquido incolore o giallo molto pallido, limpido, miscibile con acqua e con alcool.

Determinazione quantitativa. A 1,000 g aggiungere 50 ml di *acqua R* e titolare con *acido solforico 0,05 M*, utilizzando 0,1 ml di *rosso metile soluzione R* come indicatore.

1 ml di *acido solforico 0,05 M* equivale a 9,12 mg di $C_4H_{13}NO$.

Tetrametilammonio idrossido soluzione diluita. 1088601.

Diluire 10 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* a 100 ml con *alcool esente da aldeide R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Tetrametilbenzidina. $C_{16}H_{20}N_2$. (M_r 240,3). 1132600. [54827-17-7]. 3,3',5,5'-Tetrametilbifenil-4,4'-diammina.

Polvere praticamente insolubile in acqua, solubilissima in metanolo.

p.f.: circa 169 °C.

Tetrametildiamminodifenilmetano. $C_{17}H_{22}N_2$. (M_r 254,4). 1088700. [101-61-1]. 4,4'-Metilendis-(*N,N*-dimetilammina).

Cristalli o lamelle da bianco a bianco-bluastrò, praticamente insolubili in acqua, poco solubili in alcool, solubili negli acidi minerali, molto solubili in etere.

p.f.: circa 90 °C.

Tetrametildiamminodifenilmetano reattivo. 1088701.

Soluzione A. Disciogliere 2,5 g di *tetrametildiamminodifenilmetano R* in 10 ml di *acido acetico glaciale R* e aggiungere 50 ml di *acqua R*.

Soluzione B. Disciogliere 5 g di *potassio ioduro R* in 100 ml di *acqua R*.

Soluzione C. Disciogliere 0,30 g di *ninidrina R* in 10 ml di *acido acetico glaciale R* e aggiungere 90 ml di *acqua R*.

Mescolare la soluzione A, la soluzione B e 1,5 ml della soluzione C.

Tetrametiletilendiammina. $C_6H_{16}N_2$. (M_r 116,2). 1088800. [110-18-9]. *N,N,N',N'*-Tetrametiletilendiammina.

Liquido incolore, miscibile con acqua, con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,78.

n_D^{20} : circa 1,418.

p.e.: circa 121 °C.

Tetrametilsilano. $C_4H_{12}Si$. (M_r 88,2). 1088900. [75-76-3]. TMS.

Liquido incolore limpido, molto poco solubile in acqua, solubile in acetone ed in alcool.

d_{20}^{20} : circa 0,64.

n_D^{20} : circa 1,358.

p.e.: circa 26 °C.

Il tetrametilsilano usato in spettrometria di risonanza magnetica nucleare soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Nello spettro di risonanza magnetica nucleare di una soluzione approssimativamente al 10 per cento *V/V* di tetrametilsilano in *cloroformio deuterato R*, l'intensità di un eventuale segnale estraneo, esclusi quelli dovuti alle bande laterali di rotazione e al cloroformio, non è

maggiore dell'intensità dei segnali satelliti del C-13, collocati ad una distanza di 59,1 Hz su ciascun lato del segnale principale del tetrametilsilano.

Tiamazolo. $C_4H_6N_2S$. (M_r 114,2). 1089400. [60-56-0]. Metimazolo. 1-Metil-1*H*-imidazol-2-tiolo.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, molto solubile in acqua, solubile in alcool ed in diclorometano, moderatamente solubile in etere.

p.f.: circa 145 °C.

Timidina. $C_{10}H_{14}N_2O_5$. (M_r 242,2). 1158900. 1-(2-Deossi-β-eritro-pentofuranosil)-5-metilpirimidin-2,4(1*H*, 3*H*)-dione.

Aghi solubili in acqua, in etanolo (96 per cento) caldo e in acido acetico glaciale.

Timina. $C_5H_6N_2O_2$. (M_r 126,1). 1090400. [65-71-4]. 5-Metilpirimidin-2,4(1*H*, 3*H*)-dione.

Lamine o aghi corti, poco solubili in acqua fredda, solubili in acqua calda. Si scioglie nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Timolftaleina. $C_{28}H_{30}O_4$. (M_r 430,5). 1090700. [125-20-2]. 3,3-Bis(4-idrossi-5-isopropil-2-metilfenil)-3*H*-isobenzofuran-1-one.

Polvere bianca o bianco-giallastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool, si scioglie nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Timolftaleina soluzione. 1090701.

Soluzione 1 g/l in alcool *R*.

Saggio di sensibilità. A 0,2 ml della timolftaleina soluzione aggiungere 100 ml di acqua esente da anidride carbonica *R*. La soluzione è incolore. Non sono necessari più di 0,05 ml di sodio idrossido 0,1 *M* per far virare la colorazione al blu.

Viraggio. Da pH 9,3 (incolore) a pH 10,5 (blu).

Timolo. 1090500. [89-83-8]. Vedere la monografia Timolo (0791).

Il timolo usato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Menta essenza* (0405).

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g in circa 10 ml di acetone *R*.

L'area del picco principale non è inferiore al 95,0 per cento dell'area di tutti i picchi nel cromatogramma ottenuto (trascurare il picco dovuto all'acetone).

Tioacetammide. C_2H_5NS . (M_r 75,1). 1089600. [62-55-5].

Polvere cristallina o cristalli incolori, molto solubili in acqua ed in alcool.

p.f.: circa 113 °C.

Tioacetammide reattivo. 1089601.

A 0,2 ml di *tioacetammide soluzione R* aggiungere 1 ml di una miscela di 5 ml di acqua *R*, 15 ml di sodio idrossido 1 *M* e 20 ml di glicerolo 85 per cento *R*. Scaldare a b.m. per 20 s. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Tioacetammide soluzione. 1089602.

Soluzione 40 g/l.

Tiodietilenglicole. $C_4H_{10}O_2S$. (M_r 122,2). 1122900. [111-48-8]. Di(2-idrossietil)solfuro.

Liquido viscoso, incolore o giallo.

Contiene non meno del 99,0 per cento di $C_4H_{10}O_2S$. d_{20}^{20} : circa 1,18.

Tiomersale. $C_9H_9HgNaO_2S$. (M_r 404,8). 1089800. [54-64-8]. Sodio mercuriotiolato. Sodio 2-[(etilmercurio)tio]benzoato. Sodio etilmercurio tiosalicilato.

Polvere cristallina impalpabile, bianco-giallastra, solubilissima in acqua, molto solubile in alcool, praticamente insolubile in etere.

Tionina. $C_{12}H_{10}N_3SCl$. (M_r 263,8). 3,7-Diamminofenotiaz-5-inio cloruro. Schultz No. 1036. Colour Index No 52000.

Tionina soluzione. Disciogliere 1 g di *tionina R* in 50 ml di acqua *R*.

Tiourea. CH_4N_2S . (M_r 76,1). 1089900. [62-56-6].

Polvere cristallina o cristalli, bianchi, solubili in acqua ed in alcool.

p.f.: circa 178 °C.

Tiramina. $C_8H_{11}NO$. (M_r 137,2). 1117600. [51-67-2]. 4-(2-Amminoetil)fenolo.

Cristalli, moderatamente solubili in acqua, solubili in etanolo bollente.

p.f.: da 164 °C a 165 °C.

Tirosina. $C_9H_{11}NO_3$. (M_r 181,2). 1094800. [60-18-4]. Acido 2-ammino-3-(4-idrossifenil)propionico.

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori o bianchi, poco solubili in acqua, praticamente insolubili in acetone, in etanolo ed in etere. Si scioglie in acido cloridrico diluito e nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Levodopa* (0038); il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

Titanio. Ti. (A_r 47,88). 1091000. [7440-32-6].

Contiene non meno del 99 per cento di Ti.

Polvere metallica, fili sottili (diametro non superiore a 0,5 mm), in spugna.

p.f.: circa 1668 °C.

Densità: circa 4,507 g/cm³.

Titanio diossido. 1117900. [13463-67-7]. Vedere la monografia *Titanio diossido (0150)*.

Titanio tricloruro. TiCl_3 . (M_r 154,3). 1091200. [7705-07-9]. Titanio(III) cloruro.

Cristalli viola-rossastri, deliquescenti, solubili in acqua ed in alcool, praticamente insolubili in etere.

p.f.: circa 440 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Titanio tricloruro soluzione. 1091201.

d_{20}^{20} : circa 1,19.

Soluzione 150 g/l in acido cloridrico (100 g/l di HCl).

Titanio tricloruro-acido solforico reattivo. 1091202. Mescolare con cautela 20 ml di *titanio tricloruro soluzione R* con 13 ml di *acido solforico R*. Aggiungere *idrogeno perossido soluzione concentrata R* in quantità sufficiente a dare un colore giallo. Scaldare fino a sviluppo di fumi bianchi. Lasciar raffreddare. Diluire con *acqua R* e ripetere il riscaldamento e l'aggiunta di *acqua R* fino ad ottenere una soluzione incolore. Diluire a 100 ml con *acqua R*.

α -Tocoferile acetato. 1152400. [7695-91-2].

Vedere la monografia *R,R,R- α -Tocoferile acetato (0439)*.

α -Tocoferolo. 1152300. [10191-41-0].

Vedere la monografia *R,R,R- α -Tocoferolo (0692)*.

***o*-Tolidina.** $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2$. (M_r 212,3). 1123000. [119-93-7]. 3,3'-Dimetilbenzidina.

Contiene non meno del 97,0 per cento di $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2$. Polvere cristallina brunastra chiara.

p.f.: circa 130 °C.

***o*-Tolidina soluzione.** 1123001.

Disciogliere 0,16 g di *o-tolidina R* in 30,0 ml di *acido acetico glaciale R*, aggiungere 1,0 g di *potassio ioduro R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Toluene. C_7H_8 . (M_r 92,1). 1091300. [108-88-3]. Metilbenzene.

Liquido infiammabile incolore, limpido, molto poco solubile in acqua, miscibile con alcool.

d_{20}^{20} : da 0,865 a 0,870.

p.e.: circa 110 °C.

Toluene esente da zolfo. 1091301.

Soddisfa ai requisiti prescritti per il *toluene R* e agli ulteriori requisiti seguenti:

Composti solforati. A 10 ml aggiungere 1 ml di *etanolo R* e 3 ml di *potassio piombito soluzione R* e bollire a ricadere per 15 min. Lasciare a riposo per 5 min. Nello strato acquoso non appare alcun imbrunimento.

Sostanze correlate al tiofene. Agitare 2 ml con 5 ml di *isatina reattivo R* per 5 min e lasciare a riposo per 15 min. Nello strato inferiore non appare alcuna colorazione blu.

Toluensolfonammide. $\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}$. (M_r 171,2). 1091500. [70-55-3]. 4-Metilbensolfonammide. *p*-Toluensolfonammide.

Polvere cristallina bianca, poco solubile in acqua ed in etere, solubile in alcool e nelle soluzioni acquose di idrossidi alcalini.

p.f.: circa 136 °C.

Cromatografia. Esaminare come prescritto nella monografia *Tolbutamide (0304)*; il cromatogramma presenta solo una macchia principale.

***o*-Toluensolfonammide.** $\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}$. (M_r 171,2). 1091400. [88-19-7]. 2-Metilbensolfonammide.

Polvere cristallina bianca, poco solubile in acqua ed in etere, solubile in alcool e nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

p.f.: circa 156 °C.

***p*-Toluensolfonammide.** 1091500. [70-55-3]. Vedere *toluensolfonammide R*.

***o*-Tolidina.** $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}$. (M_r 107,2). 1091700. [95-53-4]. 2-Metilanilina.

Liquido giallo pallido che diventa bruno-rossastro per esposizione all'aria e alla luce, poco solubile in acqua, solubile in alcool e negli acidi diluiti.

d_{20}^{20} : circa 1,01.

n_D^{20} : circa 1,569.

p.e.: circa 200 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

***o*-Tolidina cloridrato.** $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{ClN}$. (M_r 143,6). 1117300. [636-21-5]. 2-Metilanilina cloridrato. 2-Metilbenzenammina cloridrato. Contiene non meno del 98,0 per cento di $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{ClN}$.

p.f.: da 215 °C a 217 °C.

***p*-Tolidina.** $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}$. (M_r 107,2). 1091800. [106-49-0]. 4-Metilanilina.

Lamine o fiocchi lucenti, poco solubili in acqua, molto solubili in acetone ed in alcool, solubili in etere.

p.f.: circa 44 °C.

Toluolo. Vedere *toluene R*.

Tornasole. 1049300. [1393-92-6]. Schultz No. 1386.

Frammenti blu-indaco preparati da varie specie di *Rocella*, *Lecanora* o altri licheni, solubili in acqua, praticamente insolubili in alcool.

Viraggio. Da pH 5 (rosso) a pH 8 (blu).

Tornasole cartina blu. 1049301.

Bollire per 1 h 10 parti di *tornasole R* grossolanamente polverizzato con 100 parti di *alcool R*. Decantare l'alcool ed aggiungere al residuo una miscela di 45 parti di *alcool R* e 55 parti di *acqua R*. Dopo due giorni decantare il liquido limpido. Impregnare delle strisce di carta da filtro con la soluzione e lasciar asciugare.

Saggio di sensibilità. Immergere una striscia di 10 mm × 60 mm in una miscela di 10 ml di *acido cloridrico 0,02 M* e 90 ml di *acqua R*. Per agitazione, la carta vira al rosso entro 45 s.

Tornasole cartina rossa. 1049302.

All'estratto di tornasole blu aggiungere *acido cloridrico diluito R* goccia a goccia finché il colore blu vira al rosso. Impregnare delle strisce di carta da filtro con la soluzione e lasciar asciugare.

Saggio di sensibilità. Immergere una striscia di 10 mm × 60 mm in una miscela di 10 ml di *sodio idrossido 0,02 M* e 90 ml di *acqua R*. Per agitazione, la carta vira al blu entro 45 s.

Tosilarginina cloridrato estere metilico.

$C_{14}H_{23}ClN_4O_4S$. (M_r 378,9). 1092000. [1784-03-8]. *N*-Tosil-L-arginina metilestere cloridrato. Metile (*S*)-5-guanidino-2-(4-metilbensolfonammido)valerato cloridrato.

$[\alpha]_D^{20}$: da -12 a -16, determinato su una soluzione 40 g/l.

p.f.: circa 145 °C.

Tosilarginina cloridrato estere metilico soluzione. 1092001.

A 98,5 mg di *tosilarginina cloridrato estere metilico R* aggiungere 5 ml di *tampone tris(idrossimetil)amminometano soluzione a pH 8,1 R* ed agitare fino a dissoluzione. Aggiungere 2,5 ml di *rosso metile indicatore misto R* e diluire a 25,0 ml con *acqua R*.

Tosil-fenilalanil-clorometano. $C_{17}H_{18}ClNO_3S$. (M_r 351,9). 1092200. [402-71-1]. *N*-Tosil-L-fenilalanilclorometano.

$[\alpha]_D^{20}$: da -85 a -89, determinato su una soluzione 10 g/l in *alcool R*.

$A_{1cm}^{1\%}$: da 290 a 320, determinata a 228,5 nm in *alcool R*.
p.f.: circa 105 °C.

Tosil-lisil-clorometano cloridrato. $C_{14}H_{22}Cl_2N_2O_3S$. (M_r 369,3). 1092100. [4238-41-9]. *N*-Tosil-L-lisil-clorometano cloridrato. (3*S*)-7-Ammino-1-cloro-3-(4-metilbenzensofonammido)eptan-2-one cloridrato.

$[\alpha]_D^{20}$: da -7 a -9, determinato su una soluzione 20 g/l.

$A_{1cm}^{1\%}$: da 310 a 340 determinata a 230 nm utilizzando una soluzione in *acqua R*.

p.f.: circa 155 °C, con decomposizione.

Toxafene. 1132800. [8001-35-2].

Miscela di policloroderivati.

p.f.: da 65 °C a 90 °C.

Può essere usata un'idonea e certificata soluzione di riferimento (10 ng/μl in iso-ottano).

Treonina. 1090000. [72-19-5]. Vedere la monografia *Treonina* (1049).

Triacetina. $C_9H_{14}O_6$. (M_r 218,2). 1092400. [102-76-1]. Propan-1,2,3-triil triacetato.

Liquido da incolore a giallastro, quasi limpido, solubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,16.

n_D^{20} : circa 1,43.

p.e.: circa 260 °C.

Triamcinolone. $C_{21}H_{27}FO_6$. (M_r 394,4). 1111300. [124-94-7]. 9-Fluoro-11β,16α,17,21-tetraidrossipregna-1,4-diene-3,20-dione.

Polvere cristallina.

p.f.: da 262 °C a 263 °C.

Triamcinolone acetonide. 1133100. [76-25-5]. Vedere la monografia *Triamcinolone acetonide* (0533).

Tributile citrato. $C_{18}H_{32}O_7$. (M_r 360,4). 1152800. [77-94-1]. 2-Idrossipropan-1,2,3-tricarbossilato di tributile.

d_4^{20} : 1,043 circa.

n_D^{20} : 1,445 circa.

Tricina. $C_6H_{13}NO_5$. (M_r 179,2). 1138900. [5704-04-1]. *N*-[2-idrossi-1,1-bis(idrossimetil)etil]glicina.

Usare reattivi per elettroforesi.

Tricloretilene. Vedere *tricloroetilene R*.

1,1,1-Tricloro-2,2-bis-(4-clorofenil)etano soluzione. Clofenotano soluzione.

Soluzione satura di *clofenotano R* in *etanolo R* a temperatura compresa tra 17,5 °C e 18,5 °C.

1,1,1-Tricloroetano. $C_2H_3Cl_3$. (M_r 133,4). 1092600. [71-55-6]. Metilcloroformio.

Liquido non infiammabile, praticamente insolubile in acqua, solubile in acetone, in etere e in metanolo.

d_{20}^{20} : circa 1,34.

n_D^{20} : circa 1,438.

p.e.: circa 74 °C.

Tricloroetilene. C_2HCl_3 . (M_r 131,4) 1102100. [79-01-6].

Liquido incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,46.

n_D^{20} : circa 1,477.

Triclorotrifluoroetano. $C_2Cl_3F_3$. (M_r 187,4). 1092700. [76-13-1]. 1,1,2-Tricloro-1,2,2-trifluoroetano.

Liquido volatile, incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con acetone e con etere.

d_{20}^{20} : circa 1,58.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 98 per cento distilla tra 47 °C e 48 °C.

Tricosano. $C_{23}H_{48}$. (M_r 324,6). 1092800. [638-67-5].

Cristalli bianchi, praticamente insolubili in acqua, solubili in etere ed in esano.

n_D^{20} : circa 1,447.

p.f.: circa 48 °C.

Trietanolammina. 1092900. [102-71-6]. Vedere la monografia *Trolamina* (1577).

Trietilammina. $C_6H_{15}N$. (M_r 101,2). 1093000. [121-44-8]. *N,N*-Dietiletanammina.

Liquido incolore, poco solubile in acqua a temperatura inferiore a 18,7 °C, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,727.

n_D^{20} : circa 1,401.

p.e.: circa 90 °C.

Trietile fosfonoformiato. $C_7H_{15}O_5P$. (M_r 210,2). 1132900. [1474-78-8]. Etile (dietossifosforil)formiato.

Liquido incolore.

p.e._{12 mm}: circa 135 °C.

Trietilendiammina. $C_6H_{12}N_2$. (M_r 112,2). 1093100. 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]ottano.

Cristalli molto igroscopici, che sublimano rapidamente a temperatura ambiente, molto solubili in acqua, in acetone e in etanolo.

p.e.: circa 174 °C.

p.f.: circa 158 °C.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Trifenilmetanolo. $C_{19}H_{16}O$. (M_r 260,3). 1093700. [76-84-6]. Trifenilcarbinolo.

Cristalli incolori, praticamente insolubili in acqua, molto solubili in alcool.

Trifeniltetrazolio cloruro. $C_{19}H_{15}ClN_4$. (M_r 334,8). 1093800. [298-96-4]. 2,3,5-Trifenil-2H-tetrazolio cloruro.

Contiene non meno del 98,0 per cento di $C_{19}H_{15}ClN_4$. Polvere gialla pallida o gialla scura, solubile in acqua, in acetone ed in alcool, praticamente insolubile in etere.

p.f.: circa 240 °C, con decomposizione.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 1,000 g in una miscela di 5 ml *acido nitrico diluito R* e 45 ml di *acqua R*. Aggiungere 50,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e scaldare all'ebollizione. Lasciar raffreddare, aggiungere 3 ml di *dibutile ftalato R*, agitare vigorosamente e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M*, usando 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 33,48 mg di $C_{19}H_{15}ClN_4$.

Conservare al riparo dalla luce.

Trifeniltetrazolio cloruro soluzione. 1093801.

Soluzione 5 g/l in *alcool esente da aldeide R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Trigonellina cloridrato. $C_7H_8ClNO_2$. (M_r 173,6). 1117400. [6138-41-6]. 3-Carbossi-1-metilpiridinio cloruro. Acido nicotinico *N*-metilbetaina cloridrato.

Polvere cristallina, solubilissima in acqua, solubile in alcool, praticamente insolubile in etere.

p.f.: circa 258 °C.

Trimetilclorosilano. C_3H_9ClSi . (M_r 108,7). 1133000. [75-77-4].

p.e.: 57 °C circa.

Trimetilpentano. C_8H_{18} . (M_r 114,2). 1093400. [540-84-1]. Iso-ottano. 2,2,4-Trimetilpentano.

Liquido infiammabile, incolore, praticamente insolubile in acqua, solubile in etanolo.

d_{20}^{20} : da 0,691 a 0,696.

n_D^{20} : da 1,391 a 1,393.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Non meno del 95 per cento distilla tra 98 °C e 100 °C.

Il trimetilpentano usato in spettrofotometria soddisfa all'ulteriore requisito seguente:

Trasmittanza minima (2.2.25). Determinata usando *acqua R* come bianco: 98 per cento da 250 nm a 420 nm.

Trimetilpentano R1. 1093401. Soddisfa ai requisiti prescritti per il *trimetilpentano R* con le seguenti modifiche:

Assorbanza (2.2.25). Non più dello 0,07 da 220 nm a 360 nm, determinato usando *acqua R* come liquido di compensazione.

***N,O*-bis(Trimetilsilil)acetammide.** $C_8H_{21}NOSi_2$. (M_r 203,4). 1093600. [10416-59-8].

Liquido incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,83.

***N*-Trimetilsililimidazolo.** $C_6H_{12}N_2Si$. (M_r 140,3). 1100500. [18156-74-6]. 1-Trimetilsililimidazolo.

Liquido igroscopico, incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,96.

n_D^{20} : circa 1,48.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

***N,O*-bis(Trimetilsilil)trifluoroacetamide.**

$C_8H_{18}F_3NOSi_2$. (M_r 257,4). 1133200. [25561-30-2]. BSTFA.

Liquido incolore.

d_{20}^{20} : circa 0,97.

n_D^{20} : circa 1,38.

p.e._{12mm}: 40 °C circa.

Trimetilsolfonio idrossido. $C_3H_{10}OS$. (M_r 94,2). 1145000. [17287-03-5].

d_4^{20} : circa 0,81.

Tripsina. 1094500. [9002-07-7].

Enzima proteolitico ottenuto per attivazione del tripsinogeno estratto dal pancreas del bue (*Bos taurus* L.).

Polvere cristallina o amorfa bianca, moderatamente solubile in acqua.

Tripsina per mappa peptidica. 1094600. [9002-07-7].

Tripsina di elevata purezza trattata allo scopo di eliminare l'attività chimotriptica.

Triptofano. C₁₁H₁₂N₂O₂. (M_r 204,2). 1094700. [73-22-3]. Polvere cristallina bianca o bianco-giallastra o cristalli incolori, poco solubili in acqua, molto poco solubili in alcool, praticamente insolubili in etere.

[α]_D²⁰: circa - 30, determinato su una soluzione 10 g/l.

Triscianoetossipropano. C₁₂H₁₇N₃O₃. (M_r 251,3). 1093900. 1,2,3-Tris(2-cianoetossi)propano.

Liquido viscoso, giallo bruno, solubile in metanolo. Usato come fase stazionaria in gas cromatografia.

d_{20}^{20} : circa 1,11.

Viscosità (2.2.9): circa 172 mPa·s.

Tris(idrossimetil)amminometano. 1094200. [77-86-1].

Vedere la monografia *Trometamolo* (1053).

Tris(idrossimetil)amminometano soluzione. 1094201.

Soluzione contenente l'equivalente di 24,22 g di C₄H₁₁NO₃ in 1000,0 ml.

Tris(idrossimetil)amminometano soluzione R1. 1094202.

Disciogliere 60,6 mg di *tris(idrossimetil)amminometano R* e 0,234 g di *sodio cloruro R* in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Conservare a 2-8 °C e usare entro 3 giorni.

Tris [2,4-di(1,1-dimetiletil)fenil]fosfito. C₄₂H₆₃O₃P. (M_r 647). 1094100. [31570-04-4].

Polvere bianca.

p.f.: da 182 °C a 186 °C.

1,3,5-Tris[3,5-di(1,1-dimetiletil)-4-idrossibenzil]-1,3,5-triazin-2,4,6-(1H,3H,5H) trione. C₄₈H₆₉O₆N₃. (M_r 784,1). 1094000. [27676-62-6].

Polvere cristallina bianca.

p.f.: da 218 °C a 222 °C.

Trombina bovina. 1090200. [9002-04-4].

Preparazione dell'enzima, ottenuto dal plasma bovino, che converte il fibrinogeno in fibrina.

Polvere bianco-giallastra.

Conservare a temperatura inferiore a 0 °C.

Trombina umana. 1090100. [9002-04-4].

Trombina umana essiccata. Preparazione dell'enzima che converte il fibrinogeno umano in fibrina. E' ottenuta dal plasma umano liquido e può essere preparata per precipitazione con sali idonei e appropriati solventi organici in condizioni controllate di pH, forza ionica e temperatura.

Polvere bianco-giallastra, molto solubile in una soluzione (9 g/l) di sodio cloruro dando luogo ad una soluzione giallo pallido, opaca.

Conservare in un recipiente sterile sotto azoto, sigillato, al riparo dalla luce, a temperatura inferiore a 25 °C.

Trombina umana soluzione. 1090101.

Ricostituire la *trombina umana R* come indicato dal produttore e diluire a 5 U.I. per millilitro con *tampone tris(idrossimetil)amminometano-sodio cloruro a pH 7,4 R*.

Tromboplastina. 1090300.

Estrarre 1,5 g di *cervello bovino essiccato con acetone polvere R* con 60 ml di *acqua R* a 50 °C per 10-15 min, centrifugare a 1500 giri/min per 2 min e decantare il liquido soprannatante. L'estratto mantiene la sua attività per diversi giorni se conservato in frigorifero. Può contenere 3 g/l di *cresolo R* come conservante antimicrobico.

Trometamolo.

Vedere la monografia *Trometamolo* (1053).

Tuione. C₁₀H₁₆O. (M_r 152,2). 1116500. [546-80-5]. 4-Metil-1-(1-metiletil)biciclo[3.1.0]esan-3-one.

Liquido incolore o quasi incolore; praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool e in molti altri solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,925.

n_D^{20} : circa 1,455.

[α]_D²⁰: circa - 15.

p.e.: 200 °C circa.

Umbelliferone. C₉H₆O₃. (M_r 162,1). 1137500. [93-35-6]. 7-Idrossicumarina. 7-Idrossi-2-*H*-1-benzopirano-2-one.

Si ottiene dall'acqua sotto forma di aghi.

p.f.: da 225 °C a 228 °C.

Urea. 1095000. [57-13-6]. Vedere la monografia *Urea* (0743).

Uridina. C₉H₁₂N₂O₆. (M_r 244,2). 1095100. [58-96-8]. 1- β -D-Ribofuranosiluracile.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, solubile in acqua.

p.f.: circa 165 °C.

Valenzena. C₁₅H₂₄. (M_r 204,4). 1152100. [4630-07-3]. 4 β H,5 α -Eremofila-1(10),11-diene. (1R,7R,8aS)-1,8a-Dimetil-7-(1-metiletenil)-1,2,3,5,6,7,8,8a-ottaidronaftalene.

Liquido oleoso, da incolore al giallo pallido. Con odore caratteristico, praticamente insolubile in acqua, solubile in alcool.

d_4^{20} : circa 0,918.

n_D^{20} : circa 1,508.

p.f.: circa 123 °C.

La valenzena utilizzata in gas cromatografia soddisfa i seguenti saggi addizionali.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Arancia dolce essenza* (1811).

Il contenuto non è inferiore del 90 per cento, calcolato con la procedura di normalizzazione.

Vanadio pentossido. Vedere *divanadio pentossido R*.

Vanillina. 1095300. [121-33-5]. Vedere la monografia *Vanillina* (0747).

Vanillina reattivo. 1095301.

Aggiungere con cautela, goccia a goccia, 2 ml di *acido solforico R* a 100 ml di una soluzione (10 g/l) di *vanillina R* in *alcool R*.

Usare entro 48 h dalla preparazione.

Vanillina soluzione fosforica. 1095302.

Disciogliere 1,0 g di *vanillina R* in 25 ml di *alcool R*. Aggiungere 25 ml di *acqua R* e 35 ml di *acido fosforico R*.

Vanillina soluzione solforica.

Soluzione 10 g/l di *vanillina R* in *acido solforico R*.

Vaselina bianca molle. Vedere *paraffina bianca molle R*.

Vaselina, olio. 1062000. [8042-47-5]. Vedere la monografia *Paraffina liquida* (0239).

Verbenone. C₁₀H₁₄O. (M_r 150,2). 1140500. [1196-01-6]. (1*S*,5*S*)-4,6,6-Trimetilbicciclo[3.1.1]ept-3-en-2-one.

Olio con odore caratteristico, praticamente insolubile in acqua, miscibile in solventi organici.

d_{20}^{20} : circa 0,978.

n_D^{18} : circa 1,49.

$[\alpha]_D^{18}$: circa + 249,6.

p.e.: da 227 °C a 228 °C.

p.f.: circa 6,5 °C.

Il verbenone utilizzato in gas cromatografia soddisfa all'ulteriore saggio seguente:

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) come prescritto nella monografia *Rosmarino essenza* (1846).

Il contenuto non è inferiore al 99 per cento, calcolato mediante la procedura di normalizzazione.

Verde bromocresolo. C₂₁H₁₄Br₄O₅S. (M_r 698). 1012600. [76-60-8]. Bromocresolo verde. 3',3'',5',5''-Tetrabromo-*m*-cresolsulfonftaleina. 4,4'-(3*H*-2,1-Benzossatiol-3-iliden)bis[2,6-dibromo-3-metilfenolo] *S,S*-diossido.

Polvere bianco-brunastra, poco solubile in acqua, solubile in alcool e nelle soluzioni diluite di idrossidi alcalini.

Verde bromocresolo soluzione. 1012601. Bromocresolo verde soluzione.

Disciogliere 50 mg di *verde bromocresolo R* in 0,72 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 20 ml di *alcool R* e diluire a 100 ml con *acqua R*.

Saggio di sensibilità. A 0,2 ml di *verde bromocresolo soluzione* aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. La soluzione è blu. Non sono necessari più di 0,2 ml di *acido cloridrico 0,02 M* per far virare la colorazione al giallo.

Viraggio. Da pH 3,6 (giallo) a pH 5,2 (blu).

Verde bromocresolo-rosso metile soluzione. 1012602.

Disciogliere 0,15 g di *verde bromocresolo R* e 0,1 g di *rosso metile R* in 180 ml di *etanolo R* e diluire a 200 ml con *acqua R*.

Verde malachite. C₂₃H₂₅ClN₂. (M_r 364,9). 1050500. [123333-61-9]. Schultz No. 754. Colour Index No. 42000. [4-[[4-(Dimetilammino)fenil]fenilmetilen]cicloesa-2,5-dien-1-iliden]dimetilammonio cloruro.

Cristalli verdi dalla lucentezza metallica, solubilissimi in acqua dando luogo ad una soluzione verde-bluastro, solubili in alcool ed in metanolo.

Una soluzione 0,01 g/l in *alcool R* presenta un massimo di assorbimento (2.2.25) a 617 nm.

Verde malachite soluzione. 1050501.

Soluzione 5 g/l in *acido acetico anidro R*.

Verde metile. C₂₆H₃₃Cl₂N₃. (M_r 458,5). 1054200. [7114-03-6]. Schultz No. 788. Colour Index No. 42585. 4-[[4-(Dimetilammino)fenil][4-(dimetilammino)cicloesa-2,5-dieniliden]-metilfenil]trimetilammonio dicloruro.

Polvere verde, solubile in acqua, solubile in acido solforico dando luogo ad una soluzione gialla che vira al verde per diluizione con acqua.

Verde metile iodomercurato cartina. 1054201.

Immergere sottili strisce di un'adonea carta da filtro in una soluzione (40 g/l) di *verde metile R* e lasciar asciugare all'aria. Immergere le strisce per 1 h in una soluzione contenente 140 g/l di *potassio ioduro R* e (200 g/l) di *mercurio(-ico) ioduro R*. Lavare con *acqua distillata R* finché i lavaggi siano praticamente incolori e lasciar asciugare all'aria. Conservare al riparo dalla luce ed usare entro 48 h.

Vinile acetato. C₄H₆O₂. (M_r 86,10). 1111800. [108-05-4]. Etenile acetato.

d_{20}^{20} : circa 0,930.

p.e.: circa 72 °C.

Vinile cloruro. C₂H₃Cl. (M_r 62,5). 1095400. [75-01-4]. Gas incolore, poco solubile nei solventi organici.

Vinile polimero ottadecilsililato per cromatografia. 1121600.

Particelle sferiche (5 µm) di un copolimero di alcool vinilico legato con un ottadecilsilano. Contenuto in carbonio del 17 per cento.

2-Vinilpiridina. C₇H₇N. (M_r 105,1). 1102200. [100-69-6]. Liquido giallo, miscibile con acqua.

d_{20}^{20} : circa 0,97.

n_D^{20} : circa 1,549.

1-Vinilpirrolidin-2-one. C₆H₉NO. (M_r 111,1). 1111900. [88-12-0]. 1-Etenilpirrolidin-2-one.

Contiene non meno del 99,0 per cento di C₆H₉NO.

Liquido limpido incolore.

Acqua (2.5.12, determinazione semimicro). Non più dello 0,1 per cento, determinato su 2,5 g. Usare come solvente, una miscela di 50 ml di *metanolo anidro R* e 10 ml di *butirrolattone R*.

Determinazione quantitativa. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

La cromatografia può essere eseguita usando:

- una colonna di silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di 0,5 mm con la parete interna ricoperta con uno strato di 1,0 μm di *macrogol 20000 R*,
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantere la temperatura della camera di iniezione a 190 °C e programmare la temperatura della colonna come segue: mantenere la temperatura a 80 °C per 1 min e poi aumentarla a 190 °C ad una velocità di 10 °C al minuto. Mantenere a 190 °C per 15 min. Iniettare 0,3 μl della sostanza in esame e aggiustare il flusso del gas di trasporto in modo che il tempo di ritenzione del picco corrispondente all'1-vinilpirrolidin-2-one sia di circa 17 min. Determinare il contenuto di $\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}$ mediante normalizzazione interna.

Violetto di genziana. Vedere *crystal violetto R*.

Violetto di genziana soluzione. Vedere *crystal violetto soluzione R*.

Vitexina. $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$. (M_r 448,4). 1133300. [3681-93-4]. Apigenina 8-glucoside.

Polvere gialla.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso al riparo dalla luce.

Xantidrolo. $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$. (M_r 198,2). 1096100. [90-46-0]. 9-Xantenolo.

Contiene non meno del 90,0 per cento di $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$. Polvere da bianco a giallo pallido, molto poco solubile in acqua, solubile in alcool, in etere ed in acido acetico glaciale.

È anche disponibile come soluzione metanolica contenente 90-110 g/l di xantidrolo.

p.f.: circa 123 °C.

Determinazione quantitativa. In un recipiente da 250 ml disciogliere 0,300 g in 3 ml di *metanolo R* o usare 3,0 ml di soluzione. Aggiungere 50 ml di *acido acetico glaciale R* e goccia a goccia, agitando, 25 ml di una soluzione (20 g/l) di *urea R*. Lasciare a riposo per 12 h, raccogliere il precipitato su un filtro di vetro sinterizzato (16), lavare con 20 ml di *alcool R*, essiccare in stufa a 100-105 °C e pesare.

1 g di precipitato equivale a 0,9429 g di xantidrolo.

Conservare al riparo dalla luce. Se si usa una soluzione metanolica, conservare in piccoli flaconcini sigillati e filtrare prima dell'uso, se necessario.

Xantidrolo R1. 1096101.

Soddisfa ai requisiti prescritti per lo *xantidrolo R* e all'ulteriore requisito seguente:

Contiene non meno del 98,0 per cento di $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$.

Xantidrolo soluzione. 1096102.

A 0,1 ml di una soluzione (100 g/l) di *xantidrolo R* in *metanolo R* aggiungere 100 ml di *acido acetico anidro R* ed 1 ml di *acido cloridrico R*. Lasciare a riposo per 24 h prima dell'uso.

Xilene. C_8H_{10} . (M_r 106,2). 1096200. [1330-20-7].

Miscela di isomeri. Liquido infiammabile, incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,867.

n_D^{20} : circa 1,497.

p.e.: circa 138 °C.

m-Xilene. C_8H_{10} . (M_r 106,2). 1117700. [108-38-3]. 1,3-Dimetilbenzene.

Liquido infiammabile limpido ed incolore, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,884.

n_D^{20} : circa 1,497.

p.e.: circa 139 °C.

p.f.: circa -47 °C.

o-Xilene. C_8H_{10} . (M_r 106,2). 1100600. [95-47-6]. 1,2-Dimetilbenzene.

Liquido infiammabile, incolore, limpido, praticamente insolubile in acqua, miscibile con alcool e con etere.

d_{20}^{20} : circa 0,881.

n_D^{20} : circa 1,505.

p.e.: circa 144 °C.

p.f.: circa 25 °C.

Xilene cianolo FF. $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}$ (M_r 538,6). [2650-17-1]. Blu acido 147. Colorante blu solubile in alcool.

Xilenolarancio. $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{Na}_4\text{O}_{13}\text{S}$. (M_r 761). 1096300. [3618-43-7]. Arancio xilenolo. Tetrasodio 3,3'-(3*H*-2,1-benzossatiolo-3-iliden)bis[(6-idrossi-5-metil-3,1-fenilen) metilenimminobisacetato] *S,S*-diossido.

Polvere cristallina bruno-rossastra, solubile in acqua.

Xilenolarancio miscela composta. 1096301.

Triturare 1 parte di *xilenolarancio R* con 99 parti di *potassio nitrato R*.

Saggio di sensibilità. A 50 ml di *acqua R* aggiungere 1 ml di *acido acetico diluito R*, 50 mg di xilenolarancio miscela composta e 0,05 ml di *piombo nitrato soluzione R*. Aggiungere *esametilentetrammina R* finché la colorazione viri dal giallo al rosso violetto. Dopo l'aggiunta di 0,1 ml di *sodio edetato 0,1 M* la colorazione vira al giallo.

Xilolo. Vedere *xilene R*.

Xilosio. 1096400. [58-86-6]. Vedere la monografia *Xilosio* (1278).

Zinco. Zn. (A_r 65,4). 1096500. [7440-66-6].

Contiene non meno del 99,5 per cento di Zn.

Cilindri bianco-argento, granuli, palline o limatura dalla lucentezza blu.

Arsenico (2.4.2). 5,0 g soddisfano al saggio limite A per l'arsenico (0,2 ppm). Disciogliere in una miscela di 15 ml di *acido cloridrico R* e di 25 ml di *acqua R*, come prescritto.

Zinco attivato. 1096501.

Porre le palline o i cilindri di zinco da attivare in una beuta ed aggiungere una quantità di soluzione di *acido cloroplastinico R* a 50 ppm sufficiente a ricoprire il metallo. Lasciare il metallo in contatto con la soluzione per 10 min, eliminare la soluzione, lavare e asciugare immediatamente.

Arsenico. A 5 g di zinco attivato aggiungere 15 ml di *acido cloridrico R*, 25 ml di *acqua R*, 0,1 ml di *stagno(-oso) cloruro soluzione R* e 5 ml di *potassio ioduro soluzione R*. Trattare come descritto nel saggio limite A per l'arsenico (2.4.2). Nessuna macchia appare sulla *mercurio(-ico) bromuro cartina R*.

Attività. Ripetere il saggio per l'arsenico utilizzando gli stessi reattivi ed aggiungendo una soluzione contenente 1 µg di arsenico. Una macchia apprezzabile appare sulla *mercurio(-ico) bromuro cartina R*.

Zinco acetato. $(C_2H_3O_2)_2Zn \cdot 2H_2O$. (M_r 219,5). 1102300. [5970-45-6]. Zinco acetato diidrato.

Cristalli bianchi lucenti, leggermente efflorescenti, molto solubili in acqua, solubili in alcool.

Perde l'acqua di cristallizzazione a 100 °C.

d_{20}^{20} : circa 1,735.

p.f.: circa 237 °C.

Zinco acetato soluzione. 1102301.

Mescolare 600 ml di *acqua R* con 150 ml di *acido acetico glaciale R*, 54,9 g di *zinco acetato R* e porre sotto agitazione per disciogliere. Continuare ad agitare aggiungendo 150 ml di *ammoniaca concentrata R*. Raffreddare a temperatura ambiente e portare a pH 6,4 con *ammoniaca R*. Diluire la miscela a 1 litro con *acqua R*.

Zinco cloruro. 1096600. [7646-85-7]. Vedere la monografia *Zinco cloruro* (0110).

Zinco cloruro in acido formico soluzione. 1096601.

Disciogliere 20 g di *zinco cloruro R* in 80 g di una soluzione (850 g/l) di *acido formico anidro R*.

Zinco cloruro e iodio soluzione. 1096602.

Disciogliere 20 g di *zinco cloruro R* e 6,5 g di *potassio ioduro R* in 10,5 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,5 g di *iodio R* ed agitare per 15 min. Filtrare se necessario.

Conservare al riparo dalla luce.

Zinco ioduro e amido soluzione. 1096502.

Ad una soluzione di 2 g di *zinco cloruro R* in 10 ml di *acqua R* aggiungere 0,4 g di *amido solubile R* e scaldare fino a che l'amido si scioglie. Dopo il raffreddamento a temperatura ambiente aggiungere 1,0 ml di una soluzione incolore contenente 0,10 g di *zinco R* come limatura e 0,2 g di *iodio R* in *acqua R*. Diluire la soluzione a 100 ml con *acqua R* e filtrare. Conservare al riparo dalla luce.

Saggio di sensibilità. Diluire 0,05 ml di *sodio nitrito soluzione R* a 50 ml con *acqua R*. A 5 ml di questa soluzione aggiungere 0,1 ml di *acido solforico diluito R* e 0,05 ml della soluzione di zinco ioduro e amido e mescolare. La soluzione diventa blu.

Zinco ossido. 1096700. [1314-13-2]. Vedere la monografia *Zinco ossido* (0252).

Zinco polvere. Zn. (A_r 65,4). 1096800. [7440-66-6].

Contiene non meno del 90,0 per cento di Zn (A_r 65,4).

Polvere grigia, molto fine, solubile in *acido cloridrico diluito R*.

Zinco solfato. 1097000. [7446-20-0]. Vedere la monografia *Zinco solfato* (0111).

Zirconile cloruro. Sale basico corrispondente approssimativamente alla formula $ZrCl_2O \cdot 8H_2O$. 1097100. [15461-27-5].

Contiene non meno del 96,0 per cento di $ZrCl_2O \cdot 8H_2O$. Polvere cristallina o cristalli, bianchi o quasi bianchi, molto solubili in acqua ed in alcool.

Determinazione quantitativa. Disciogliere 0,600 g in una miscela di 5 ml di *acido nitrico R* e 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 50,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 3 ml di *dibutile ftalato R* ed agitare. Utilizzando 2 ml di *ferro (-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore, titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* fino al viraggio al giallo-rossastro.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 16,11 mg di $ZrCl_2O \cdot 8H_2O$.

Zirconile nitrato. Sale basico corrispondente approssimativamente alla formula $ZrO(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$. 1097200. [14985-18-3].

Polvere bianca o cristalli, igroscopici, solubili in acqua. La soluzione acquosa è un liquido limpido o al massimo leggermente opalescente.

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Zirconile nitrato soluzione. 1097201.

Soluzione 1 g/l in una miscela di 40 ml di *acqua R* e 60 ml di *acido cloridrico R*.

Zolfo. 1110800. [7704-34-9]. Vedere la monografia *Zolfo per uso esterno* (0953).

Soluzioni standard per saggi limite

4.1.2. SOLUZIONI STANDARD PER SAGGI LIMITE

Soluzione standard di acetaldeide (C₂H₄O 100 ppm). 5000100. Disciogliere 1,0 g di *acetaldeide R* in *2-propanolo R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml della soluzione a 500,0 ml con *2-propanolo R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Soluzione standard di acetaldeide (C₂H₄O 100 ppm) R1. 5000101. Disciogliere 1,0 g di *acetaldeide R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml della soluzione a 500,0 ml con *acqua R*. Preparare immediatamente prima dell'uso.

Soluzione standard di alluminio (Al 200 ppm). 5000200. Disciogliere in *acqua R* una quantità di *alluminio e potassio solfato R*, corrispondente a 0,352 g di $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Aggiungere 10 ml di *acido solforico diluito R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di alluminio (Al 100 ppm). 5000203. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente 8,947 g di *alluminio cloruro R* in 1000,0 ml di *acqua R*.

Soluzione standard di alluminio (Al 10 ppm). 5000201. Immediatamente prima dell'uso diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *alluminio nitrato R*, corrispondente a 1,39 g di $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ in 100,0 ml.

Soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm). 5000202. Immediatamente prima dell'uso diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *alluminio e potassio solfato R*, corrispondente a 0,352 g di $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ e a 10 ml di *acido solforico diluito R* in 100,0 ml.

Soluzione standard di ammonio (NH₄ 100 ppm). 5000300. Immediatamente prima dell'uso diluire a 25 ml con *acqua R* 10 ml di una soluzione contenente una quantità di *ammonio cloruro R* corrispondente a 0,741 g di NH_4Cl in 1000 ml.

Soluzione standard di ammonio (NH₄ 2,5 ppm). 5000301. Immediatamente prima dell'uso diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *ammonio cloruro R* corrispondente a 0,741 g di NH_4Cl in 1000,0 ml.

Soluzione standard di ammonio (NH₄ 1 ppm). 5000302. Immediatamente prima dell'uso diluire la *soluzione standard di ammonio (NH₄ 2,5 ppm) R* a 2,5 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di antimonio (Sb 1 ppm). 5000400. Disciogliere una quantità di *potassio-antimonio tartrato R* corrispondente a 0,274 g di $\text{C}_4\text{H}_4\text{KO}_7\text{Sb} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ in 20 ml di *acido cloridrico R1* e diluire la soluzione limpida a 100,0 ml con *acqua R*. A 10,0 ml di questa soluzione aggiungere 200 ml di *acido cloridrico R1* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. A 100,0 ml di questa soluzione

aggiungere 300 ml di *acido cloridrico R1* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Preparare le soluzioni diluite immediatamente prima dell'uso.

Soluzione standard di antimonio (Sb 100 ppm). 5000401. Disciogliere una quantità di *potassio-antimonio tartrato R* equivalente a 0,274 g di $\text{C}_4\text{H}_4\text{KO}_7\text{Sb} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ in 500 ml di *acido cloridrico 1 M* e diluire la soluzione limpida a 1000 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di argento (Ag 5 ppm). 5002600. Immediatamente prima dell'uso diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *argento nitrato R* corrispondente a 0,790 g di AgNO_3 in 1000,0 ml.

Soluzione standard di arsenico (As 10 ppm). 5000500. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione preparata disciogliendo una quantità di *anidride arseniosa R* corrispondente a 0,330 g di As_2O_3 in 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluendo poi a 250,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di arsenico (As 1 ppm). 5000501. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di arsenico (As 10 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di arsenico (As 0,1 ppm). 5000502. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di arsenico (As 1 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di bario (Ba 50 ppm). 5000600. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua distillata R* a 20 volte il suo volume una soluzione in *acqua distillata R* contenente una quantità di *bario cloruro R* corrispondente a 0,178 g di $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 100,0 ml.

Soluzione standard di bario (Ba 0,1 per cento). 5000601. Disciogliere *bario cloruro R* equivalente a 0,178 g di $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in *acqua distillata R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di bismuto (Bi 100 ppm). 5005300. Disciogliere in 50 ml di *acido nitrico R* una quantità di *bismuto R* corrispondente a 0,500 g di *Bi* e portare a volume di 500,0 ml con *acqua R*; diluire 1:10 con *acido nitrico diluito R* immediatamente prima dell'uso.

Soluzione standard di cadmio (Cd 0,1 per cento). 5000700. Disciogliere una quantità di *cadmio R* corrispondente a 0,100 g di *Cd* nella minima quantità necessaria di una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico R* e *acqua R* e diluire a 100,0 ml con una soluzione di *acido cloridrico R* all'1 per cento *V/V*.

Soluzione standard di cadmio (Cd 10 ppm). 5000701. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di cadmio (Cd 0,1 per cento) R* a 100 volte il suo volume con una soluzione di *acido cloridrico R* all'1 per cento *V/V*.

Soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm). 5000800. Immediatamente prima dell'uso diluire la soluzione a 10 volte il suo volume con *acqua distillata R* contenente *calcio carbonato R* corrispondente a 1,000 g di CaCO_3 e 23 ml di *acido cloridrico 1 M*.

Soluzione standard di calcio (Ca 100 ppm). 5000801. Immediatamente prima dell'uso diluire la soluzione a 10 volte il suo volume con *acqua distillata R* contenente *calcio carbonato R* corrispondente a 0,624 g di CaCO_3 e 3 ml di *acido acetico R* in 250 ml.

Soluzione standard di calcio (Ca 100 ppm) R1. 5000804. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente *calcio cloruro anidro R* corrispondente a 2,769 g di CaCl_2 in 1000,0 ml di *acido cloridrico diluito R*.

Soluzione standard alcoolica di calcio (Ca 100 ppm). 5000802. Immediatamente prima dell'uso diluire a 10 volte il suo volume con *alcool R* una soluzione in *acqua distillata R* contenente *calcio carbonato R* corrispondente a 2,50 g di CaCO_3 e 12 ml di *acido acetico R* in 1000,0 ml.

Soluzione standard di calcio (Ca 10 ppm). 5000803. Immediatamente prima dell'uso diluire con *acqua distillata R* a 100 volte il suo volume una soluzione in *acqua distillata R* contenente *calcio carbonato R* corrispondente a 0,624 g di CaCO_3 e diluire 3 ml di *acido acetico R* in 250,0 ml.

Soluzione standard di cloruro (Cl 50 ppm). 5004100. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente *sodio cloruro R* equivalente a 0,824 g di NaCl in 1000,0 ml.

Soluzione standard di cloruro (Cl 8 ppm). 5000900. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *sodio cloruro R* corrispondente a 1,32 g di NaCl in 1000,0 ml.

Soluzione standard di cloruro (Cl 5 ppm). 5000901. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *sodio cloruro R* corrispondente a 0,824 g di NaCl in 1000,0 ml.

Soluzione standard di cobalto (Co 100 ppm). 5004300. Disciogliere una quantità di *cobalto nitrato R* equivalente a 0,494 g di $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 500 ml di *acido nitrico 1 M* e diluire la soluzione limpida a 1000 ml con *acqua R*.

Soluzione standard liposolubile di cromo (Cr 1000 ppm). 5004600.

Composto organo-metallico di cromo in un olio.

Soluzione standard di cromo (Cr 100 ppm). 5001000. Disciogliere in *acqua R*, una quantità di *potassio dicromato R* corrispondente a 0,283 g di $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di cromo (Cr 0,1 ppm). 5001001. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di cromo (Cr 100 ppm) R* a 1000 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di cromo (Cr 0,1 per cento). 5001002. Disciogliere in *acqua R* il *potassio dicromato R* corrispondente a 2,83 g di $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di ferricianuro ($\text{Fe}(\text{CN})_6$ 50 ppm). 5001300. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *potassio ferricianuro R* corrispondente a 0,78 g di $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ in 100,0 ml.

Soluzione standard di ferro (Fe 0,1 per cento). 5001605. Disciogliere 0,100 g di Fe nella quantità minima necessaria di una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico R* e *acqua R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di ferro (Fe 250 ppm). 5001606. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 40 volte il suo volume una soluzione contenente 4,840 g di *ferro(-ico) cloruro R* in una soluzione (150 g/l) di *acido cloridrico R* diluito a 100,0 ml.

Soluzione standard di ferro (Fe 20 ppm). 5001600. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *ferro(-ico) ammonico solfato R* corrispondente a 0,863 g di $\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ e 25 ml di *acido solforico diluito R* in 500,0 ml.

Soluzione standard di ferro (Fe 10 ppm). 5001601. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *ferro(-oso) ammonico solfato R* corrispondente a 7,022 g di $\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 25 ml di *acido solforico diluito R* in 1000,0 ml.

Soluzione standard di ferro (Fe 8 ppm). 5001602. Immediatamente prima dell'uso diluire a 10 volte il suo volume con *acqua R* una soluzione contenente 80 mg di *ferro R* e 50 ml di *acido cloridrico R* (HCl 220 g/l) in 1000,0 ml.

Soluzione standard di ferro (Fe 2 ppm). 5001603. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di ferro (Fe 20 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di ferro (Fe 1 ppm). 5001604. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di ferro (Fe 20 ppm) R* a 20 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di ferrocianuro ($\text{Fe}(\text{CN})_6$ 100 ppm). 5001200. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *potassio ferrocianuro R* corrispondente a 0,20 g di $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ in 100,0 ml.

Soluzione standard di fluoruro (F 10 ppm). 5001400. Disciogliere in *acqua R* una quantità di *sodio fluo-*

Soluzioni standard per saggi limite

ruro R precedentemente essiccato a 300 °C per 12 h, corrispondente a 0,422 g di NaF, e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente (1 ml = 0,2 mg di F). Conservare in un recipiente di polietilene. Immediatamente prima dell'uso, diluire la soluzione a 20 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di fluoruro (F 1 ppm). 5001401. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di fluoruro (F 10 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di formaldeide (CH₂O 5 ppm). 5001500. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 200 volte il suo volume una soluzione contenente 1,0 g di CH₂O per litro preparata da *formaldeide soluzione R*.

Soluzione standard di fosfato (PO₄ 200 ppm). 5004200. Disciogliere in *acqua R*, il *potassio fosfato monobasico R* equivalente a 0,286 g di KH₂PO₄ e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di fosfato (PO₄ 5 ppm). 5002200. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *potassio fosfato monobasico R* corrispondente a 0,716 g di KH₂PO₄ in 1000,0 ml.

Soluzione standard di germanio (Ge 100 ppm). 5004400. Disciogliere una quantità di *ammonio esafluorogermanato (IV) R* equivalente a 0,307 g di (NH₄)₂GeF₆ in una soluzione allo 0,01 per cento V/V di *acido fluoridrico R*. Diluire la soluzione limpida a 1000 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di glicosale (C₂H₂O₂ 20 ppm). 5003700. In un pallone tarato da 100 ml pesare una quantità di *glicosale soluzione R* corrispondente a 0,200 g di C₂H₂O₂ e portare a volume con *etanolo R*. Immediatamente prima dell'uso diluire la soluzione a 100 volte il suo volume con lo stesso solvente.

Soluzione standard di glicosale (C₂H₂O₂ 2 ppm). 5003701. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di glicosale (C₂H₂O₂ 20 ppm) R* 1:10 con *etanolo R*.

Soluzione standard di idrogeno perossido (10 ppm H₂O₂). 5005200.

Prelevare 10,0 ml di *idrogeno perossido soluzione diluita R* e portare a 300,0 ml con *acqua R*. Prelevare 10,0 ml di tale soluzione e portare a 1000,0 ml con *acqua R*.

Preparare subito prima dell'uso.

Soluzione standard di ioduro (I 10 ppm). 5003800. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *potassio ioduro R* corrispondente a 0,131 g di KI in 100,0 ml.

Soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm). 5001800. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a

10 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *magnesio solfato R* corrispondente a 1,010 g di MgSO₄·7H₂O in 100,0 ml.

Soluzione standard di magnesio (Mg 10 ppm). 5001801. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di magnesio (Mg 10 ppm) R1. 5001802. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente 8,365 g di *magnesio cloruro R* in 1000,0 ml di *acido cloridrico diluito R*.

Soluzione standard di magnesio (Mg 0,1 per cento). 5001803. Disciogliere *magnesio solfato R* equivalente a 1,010 g di MgSO₄·7H₂O in *acqua distillata R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di manganese (Mn 100 ppm). 5004500. Disciogliere una quantità di *manganese solfato R* equivalente a 0,308 g MnSO₄·H₂O in 500 ml di *acido nitrico 1 M* e diluire la soluzione limpida a 1000 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di mercurio (Hg 1000 ppm). 5001900. Disciogliere una quantità di *mercurio(-ico) cloruro R* corrispondente a 1,354 g di HgCl₂ in 50 ml di *acido nitrico diluito R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di mercurio (Hg 10 ppm). 5001901. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente *mercurio(-ico) cloruro R*, corrispondente a 0,338 g di HgCl₂, in 250,0 ml.

Soluzione standard liposolubile di nichel (Ni 1000 ppm). 5004900.

Composto organo-metallico di nichel in un olio.

Soluzione standard di nichel (Ni 10 ppm). 5002000. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *nichel solfato R* corrispondente a 4,78 g di NiSO₄·7H₂O in 1000,0 ml.

Soluzione standard di nichel (Ni 0,2 ppm). 5002002. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di nichel (Ni 10 ppm) R* a 50 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di nichel (Ni 0,1 ppm). 5002001. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di nichel (Ni 10 ppm) R* a 100 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di nitrato (NO₃ 100 ppm). 5002100. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *potassio nitrato R* corrispondente a 0,815 g di KNO₃ in 500,0 ml.

Soluzione standard di nitrato (NO₃ 10 ppm). 5002101. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di nitrato (NO₃ 100 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di nitrato (NO₃ 2 ppm). 5002102. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di nitrato (NO₃ 10 ppm) R* a 5 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di palladio (Pd 500 ppm). 5003600. Disciogliere 50,0 mg di *palladio R* in 9 ml di *acido cloridrico R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di palladio (Pd 20 ppm). 5003602. Disciogliere 0,333 g di *palladio cloruro R* in 2 ml di *acido cloridrico R* riscaldato. Diluire la soluzione a 1000,0 ml con una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico diluito R* e *acqua R*. Immediatamente prima dell'uso diluire a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di palladio (Pd 0,5 ppm). 5003601. Diluire 1 ml di *soluzione standard di palladio (Pd 500 ppm) R* a 1000 ml con una miscela di 0,3 volumi di *acido nitrico R* e 99,7 volumi di *acqua R*.

Soluzione standard di piombo (Pb 0,1 per cento). 5001700. Disciogliere in *acqua R* una quantità di *piombo nitrato R* corrispondente a 0,400 g di Pb(NO₃)₂ e diluire a 250,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard liposolubile di piombo (Pb 1000 ppm). 5004800.

Composto organo-metallico di piombo in un olio.

Soluzione standard di piombo (Pb 100 ppm). 5001701. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di piombo (Pb 0,1 per cento) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm). 5001702. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di piombo (Pb 100 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R1. 5001706. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente 0,160 g di *piombo nitrato R* in 100 ml di *acqua R* alla quale è aggiunto 1 ml di *acido nitrico esente da piombo R*, e diluire a 1000,0 ml.

Soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm). 5001703. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* a 5 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm). 5001704. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di piombo (Pb 0,1 ppm). 5001705. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di platino (Pt 30 ppm). 5002300. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acido cloridrico 1 M* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente 80 mg di *acido cloroplatinico R* in 100,0 ml di *acido cloridrico 1 M*.

Soluzione standard di potassio (K 0,2 per cento). 5002402. Disciogliere *potassio fosfato dibasico R* equivalente a 0,446 g di K₂SO₄ in *acqua distillata R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di potassio (K 600 ppm). 5005100. Dissolvere in *acqua R* una quantità di *potassio solfato dibasico R* corrispondente a 2,676 g di K₂SO₄ e portare a 100,0 ml con lo stesso solvente; diluire 1:20 con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Soluzione standard di potassio (K 100 ppm). 5002400. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 20 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *potassio solfato R* corrispondente a 0,446 g di K₂SO₄ in 100,0 ml.

Soluzione standard di potassio (K 20 ppm). 5002401. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R* a 5 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di rame (Cu 0,1 per cento). 5001100. Disciogliere in *acqua R* una quantità di *rame(-ico) solfato R* corrispondente a 0,393 g di CuSO₄·5H₂O e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di rame (Cu 10 ppm). 5001101. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di rame (Cu 0,1 per cento) R* a 100 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di rame (Cu 0,1 ppm). 5001102. Immediatamente prima dell'uso, diluire la *soluzione standard di rame (Cu 10 ppm) R* a 100 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard liposolubile di rame (Cu 1000 ppm). 5004700.

Composto organo-metallico di rame in un olio.

Soluzione standard di selenio (Se 100 ppm). 5002500. Disciogliere 0,100 g di *selenio R* in 2 ml di *acido nitrico R*. Evaporare a secco. Riprendere il residuo a 3 riprese con 2 ml di *acqua R* evaporando a secco ogni volta. Disciogliere il residuo in 50 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso acido.

Soluzione standard di selenio (Se 1 ppm). 5002501. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 40 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *acido selenioso R* corrispondente a 6,54 mg di H₂SeO₃ in 100,0 ml.

Soluzione standard di sodio (Na 200 ppm). 5002700. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *sodio cloruro R* corrispondente a 0,509 g di NaCl in 100,0 ml.

Soluzione standard di sodio (Na 50 ppm). 5002701. Diluire la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R* a quattro volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di solfato (SO₄ 100 ppm). 5002802. Immediatamente prima dell'uso, diluire con *acqua distillata R* a 10 volte il suo volume una soluzione in *acqua distillata R* contenente *potassio solfato R* equivalente a 0,181 g di K₂SO₄ in 100,0 ml.

Soluzione standard di solfato (SO₄ 10 ppm). 5002800. Immediatamente prima dell'uso diluire con *acqua distillata R* a 100 volte il suo volume una soluzione in *acqua distillata R* contenente una quantità di *potassio solfato R* corrispondente a 0,181 g di K₂SO₄ in 100,0 ml.

Soluzione standard di solfato (SO₄ 10 ppm) R1. 5002801. Immediatamente prima dell'uso diluire con *alcool al 30 per cento V/V R* a 100 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *potassio solfato R* corrispondente a 0,181 g di K₂SO₄ in 100,0 ml di *alcool al 30 per cento V/V R*.

Soluzione standard di solfito (SO₂ 1,5 ppm). 5002900. Disciogliere in *acqua R* una quantità di *sodio metabisolfito R* corrispondente a 0,152 g di Na₂S₂O₅ e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *acqua R*. A 3,0 ml della soluzione risultante aggiungere 4,0 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard liposolubile di stagno (Sn 1000 ppm). 5005000.

Composto organo-metallico di stagno in un olio.

Soluzione standard di stagno (Sn 5 ppm). 5003100. Disciogliere una quantità di *stagno R* corrispondente a 0,500 g di Sn in una miscela di 5 ml di *acqua R* e 25 ml di *acido cloridrico R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Immediatamente prima dell'uso diluire la soluzione a 100 volte il suo volume con una soluzione di *acido cloridrico R* al 2,5 per cento V/V.

Soluzione standard di stagno (Sn 0,1 ppm). 5003101. Immediatamente prima dell'uso diluire la *soluzione standard di stagno (Sn 5 ppm) R* a 50 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di stronzio (Sr 1,0 per cento). 5003900. Coprire con *acqua R* lo *stronzio carbonato R* equivalente a 1,6849 g di SrCO₃. Aggiungere con cautela *acido cloridrico R* fino a dissoluzione di tutto il solido e a mancanza di ulteriore effervescenza. Diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di tallio (Tl 10 ppm). 5003000. Disciogliere una quantità di *tallio(-oso) solfato R* corrispondente a 0,1235 g di Tl₂SO₄ in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* e diluire a 1000,0 ml con la stessa soluzione. Diluire 10,0 ml della soluzione a 100,0 ml con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R*.

Soluzione standard di titanio (Ti 100 ppm). 5003200. Disciogliere 100,0 mg di *titanio R* in 100 ml di *acido clo-*

ridrico R diluiti a 150 ml con *acqua R*, scaldando se necessario. Lasciar raffreddare e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di vanadio (V 1g/l). 5003300. Disciogliere in *acqua R* una quantità di *ammonio vanadato R* corrispondente a 0,230 g di NH₄VO₃ e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione standard di zinco (Zn 5 mg/ml). 5003400. Disciogliere 3,15 g di *zinco ossido R* in 15 ml di *acido cloridrico R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Soluzione standard di zinco (Zn 100 ppm). 5003401. Immediatamente prima dell'uso diluire con *acqua R* a 10 volte il suo volume una soluzione contenente una quantità di *zinco solfato R* corrispondente a 0,440 g di ZnSO₄·7H₂O e 1 ml di *acido acetico R* in 100,0 ml.

Soluzione standard di zinco (Zn 10 ppm). 5003402. Immediatamente prima dell'uso diluire la *soluzione standard di zinco (Zn 100 ppm) R* a 10 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di zinco (Zn 5 ppm). 5003403. Immediatamente prima dell'uso diluire la *soluzione standard di zinco (Zn 100 ppm) R* a 20 volte il suo volume con *acqua R*.

Soluzione standard di zirconio (Zr 0,1 per cento). 5003500. Disciogliere una quantità di *zirconile nitrato R* corrispondente a 0,293 g di ZrO(NO₃)₂·2H₂O in una miscela di 2 volumi di *acido cloridrico R* e 8 volumi di *acqua R* e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi.

4.1.3. SOLUZIONI TAMPONE

Acetone soluzione tamponata. 4000100. Disciogliere 8,15 g di *sodio acetato R* e 42 g di *sodio cloruro R* in *acqua R*, aggiungere 68 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e 150 ml di *acetone R* e diluire a 500 ml con *acqua R*.

Tampone per l'aggiustamento della forza ionica totale R1. 4008800.

Soluzione (a). Disciogliere 210 g di *acido citrico R* in 400 ml di *acqua distillata R*. Aggiustare il pH a 7,0 (2.2.3) con *ammoniaca concentrata R*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua distillata R*.

Soluzione (b). Disciogliere 132 g di *ammonio fosfato R* in *acqua distillata R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione (c). Ad una sospensione di 292 g di *acido etilendinitrilotetracetico R* in circa 500 ml di *acqua distillata R*, aggiungere circa 200 ml di *ammoniaca concentrata R* fino a dissoluzione. Aggiustare il pH da 6 a 7 (2.2.3) con *ammoniaca concentrata R*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua distillata R*.

Mescolare volumi uguali di soluzione (a), (b) e (c) e aggiustare il pH a 7,5 con *ammoniaca concentrata R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 2,0. 4007900. Disciogliere 8,95 g di *sodio fosfato dibasico R* e 3,40 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Se necessario correggere il pH (2.2.3) con *acido fosforico R*.

Tampone solfato soluzione a pH 2,0. 4008900. Disciogliere 132,1 g di *ammonio solfato R* in *acqua R* e diluire a 500,0 ml con lo stesso solvente (Soluzione I). Versare sotto agitazione con cautela e con costante raffreddamento 14 ml di *acido solforico R* in circa 400 ml di *acqua R*; lasciare raffreddare e diluire a 500,0 ml con *acqua R* (Soluzione II). Mescolare volumi uguali delle soluzioni I e II. Aggiustare il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone soluzione a pH 2,0. 4000200. Disciogliere 6,57 g di *potassio cloruro R* in *acqua R* e aggiungere 119,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 2,2. 4010500. Mescolare 6,7 ml di *acido fosforico R* con 50,0 ml di una soluzione al 4 per cento di *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 2,2.

<i>Sodio citrato R</i>	9,8 g
2,2'-Tiodietanolo R	20,0 ml
<i>Fenolo R</i> 85 per cento	1,0 ml
<i>Acido cloridrico R</i> 37 per cento	7,5 ml
<i>Sodio cloruro R</i>	20,0 g

Disciogliere tutti i reattivi in circa 900 ml di *acqua R*, aggiungere poi *acido cloridrico R* 37 per cento in modo da ottenere il pH richiesto e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Filtrare accuratamente con filtro da 0,2 μ .

Tampone citrato-fosfato soluzione a pH 2,4. Disciogliere 16,8 g di *acido citrico monoidrato R* e 2,8 g di *sodio fosfato dibasico diidrato R* in 100 ml di *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 2,5. 4000300. Disciogliere 100 g di *potassio fosfato monobasico R* in 800 ml di *acqua R*; portare il pH a 2,5 (2.2.3) con *acido cloridrico R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 2,5 R1. 4000400. A 4,9 g di *acido fosforico diluito R* aggiungere 250 ml di *acqua R*. Portare il pH a 2,5 (2.2.3) con *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 2,5 R2. Soluzione di potassio fosfato monobasico contenente l'equivalente di 3,4 g di KH_2PO_4 in 1000,0 ml; portare il pH a circa 2,5 con *acido fosforico R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 2,8. 4010600. Disciogliere 7,8 g di *sodio fosfato monobasico R* in 900 ml di *acqua R*, portare il pH a 2,8 (2.2.3) con *acido fosforico R* e diluire a 1000 ml con lo stesso solvente.

Tampone fosfato soluzione a pH 3,0. 4000500. Mescolare 0,7 ml di *acido fosforico R* con 100 ml di *acqua R*. Diluire a 900 ml con lo stesso solvente. Portare il pH a 3,0 (2.2.3) con *sodio idrossido soluzione concentrata R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 3,0 R1. 4010000. Disciogliere 3,40 g di *potassio fosfato monobasico R* in 900 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH a 3,0 (2.2.3) con *acido fosforico R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 3,0. 4008000. Disciogliere 21,0 g di *acido citrico R* in 200 ml di *sodio idrossido 1 M* e diluire a 1000 ml con *acqua R*. Diluire 40,3 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*.

Tampone fosfato soluzione a pH 3,2. 4008100. A 900 ml di una soluzione (4 g/l) di *sodio fosfato monobasico R* aggiungere 100 ml di una soluzione (2,5 g/l) di *acido fosforico R*. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone fosfato soluzione a pH 3,2 R1. 4008500. Aggiustare il pH di una soluzione (35,8 g/l) di *sodio fosfato dibasico R* a pH 3,2 (2.2.3) con *acido fosforico diluito R*. Diluire 100,0 ml della soluzione a 2000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 3,3.

<i>Sodio citrato R</i>	14,71 g
<i>Alcool 95 per cento V/V R</i>	20,00 ml
2,2'-Tiodietanolo R	2,00 ml
<i>Fenolo R</i> 85 per cento	1,00 ml
<i>Acido cloridrico R</i> 37 per cento	8,00 ml

Disciogliere tutti i reattivi in circa 900 ml di *acqua R*, aggiungere poi *acido cloridrico R* 37 per cento in modo da ottenere il pH richiesto e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Filtrare accuratamente con filtro da 0,2 μ .

Tampone fosfato soluzione a pH 3,5. 4000700. Disciogliere 68,0 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Correggere il pH (2.2.3) con *acido fosforico R*.

Tampone soluzione a pH 3,5. 4000600. Disciogliere 25,0 g di *ammonio acetato R* in 25 ml di *acqua R* e aggiungere 38,0 ml di *acido cloridrico R1*. Correggere il pH (2.2.3), se necessario, con *acido cloridrico diluito R* o con *ammoniaca diluita R*. Diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 3,6. 4000800. A 250,0 ml di *potassio ftalato acido soluzione 0,2 M R* aggiungere 11,94 ml di *acido cloridrico 0,2 M*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 3,7. 4000900. A 15,0 ml di *acido acetico R* aggiungere 60 ml di *alcool R* e 20 ml di *acqua R*. Portare il pH a 3,7 (2.2.3) con *ammoniaca R*. Diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione rame(-ico) solfato tamponata a pH 4,0. 4001000. Disciogliere 0,25 g di *rame solfato R* e 4,5 g di *ammonio acetato R* in *acido acetico diluito R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Tampone soluzione a pH 4,1.

<i>Sodio citrato R</i>	19,61 g
<i>2,2'-Tiodietanolo R</i>	1,00 ml
<i>Fenolo R</i> 85 per cento	1,00 ml
<i>Acido cloridrico R</i> 37 per cento	9,00 ml

Disciogliere tutti i reattivi in circa 900 ml di *acqua R*, aggiungere poi *acido cloridrico R* 37 per cento in modo da ottenere il pH richiesto e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Filtrare accuratamente con filtro da 0,2 μ .

Tampone acetato soluzione a pH 4,4. 4001100. Disciogliere 136 g di *sodio acetato R* e 77 g di *ammonio acetato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente; aggiungere 250,0 ml di *acido acetico glaciale R* e mescolare.

Tampone ftalato soluzione a pH 4,4. 4001200. Disciogliere 2,042 g di *potassio ftalato acido R* in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 7,5 ml di *sodio idrossido 0,2 M* e diluire a 200,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 4,5. Disciogliere 13,61 g di *potassio fosfato monobasico R* in 750 ml di *acqua R*, aggiustare il pH, se necessario, con *sodio idrossido 0,1 M* o con *acido cloridrico 0,1 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R* (0,1 M).

Tampone fosfato soluzione a pH 4,5 R1. Diluire 1 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 4,5 R* a 10,0 ml con *acqua R* (0,01 M).

Tampone fosfato soluzione a pH 4,5 R2. Diluire 25 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 4,5 R* a 100,0 ml con *acqua R* (0,025 M).

Tampone fosfato 0,05 M soluzione a pH 4,5. 4009000. Disciogliere 6,80 g di *potassio fosfato monobasico R* in 1000,0 ml di *acqua R*. Il pH (2.2.3) della soluzione è 4,5.

Tampone sodio acetato soluzione a pH 4,5. 4010100. Disciogliere 63 g di *sodio acetato anidro R* in *acqua R*, aggiungere 90 ml di *acido acetico R*, aggiustare il pH a 4,5 e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Tampone acetato soluzione a pH 4,6. 4001400. Disciogliere 5,4 g di *sodio acetato R* in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 2,4 g di *acido acetico glaciale R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone succinato soluzione a pH 4,6. 4001500. Disciogliere 11,8 g di *acido succinico R* in una miscela di 600 ml di *acqua R* e 82 ml di *sodio idrossido 1 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone acetato soluzione a pH 4,7. 4001600. Disciogliere 136,1 g di *sodio acetato R* in 500 ml di *acqua R*. Mescolare 250 ml di questa soluzione con 250 ml di *acido acetico diluito R*. Agitare due volte con una soluzione (0,1 g/l) filtrata, preparata di recente, di *diti-zione R* in *cloroformio R*. Agitare con *carbonio tetracloruro R* finché l'estratto è incolore. Filtrare lo strato acquoso per rimuovere le tracce di carbonio tetracloruro.

Tampone acetato soluzione a pH 5,0. 4009100. A 120 ml di una soluzione (6 g/l) di *acido acetico glaciale R* aggiungere 100 ml di *potassio idrossido 0,1 M* e circa 250 ml di *acqua R*. Mescolare. Aggiustare il pH a 5,0 con una soluzione (6 g/l) di *acido acetico R* o con *potassio idrossido 0,1 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone citrato soluzione a pH 5,0 4010700. Preparare una soluzione contenente 20,1 g/l di *acido citrico R* e 8,0 g/l di *sodio idrossido R*. Correggere il pH con *acido cloridrico diluito R*.

Tampone soluzione a pH 5,2. 4001700. Disciogliere 1,02 g di *potassio ftalato acido R* in 30,0 ml di *sodio idrossido 0,1 M*. Diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Tampone per l'aggiustamento della forza ionica totale soluzione a pH 5,0-5,5. 4007700. Disciogliere 58,5 g di *sodio cloruro R*, 57,0 ml di *acido acetico glaciale R*, 61,5 g di *sodio acetato R* e 5,0 g di *acido cicloesilendinitrilotetracetico R* in *acqua R* e diluire a 500,0 ml con lo stesso solvente. Portare il pH a 5,0-5,5 con una soluzione (335 g/l) di *sodio idrossido R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua distillata R*.

Tampone soluzione a pH 5,5. 4001800. Disciogliere 54,4 g di *sodio acetato R* in 50 ml di *acqua R*, scaldando a 35 °C se necessario. Dopo raffreddamento aggiungere lentamente 10 ml di *acido acetico anidro R*. Agitare e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Tampone acetato-edetato soluzione a pH 5,5. 4001900. Disciogliere 250 g di *ammonio acetato R* e 15 g di *sodio edetato R* in 400 ml di *acqua R* e aggiungere 125 ml di *acido acetico glaciale R*.

Tampone fosfato-citrato soluzione a pH 5,5. 4008700. Mescolare 56,85 ml di una soluzione (28,4 g/l) di *sodio fosfato dibasico anidro R* e 43,15 ml di una soluzione (21 g/l) di *acido citrico R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 5,5. 4002000.

Soluzione I. Disciogliere 13,61 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione II. Disciogliere 35,81 g di *sodio fosfato dibasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Mescolare 96,4 ml della soluzione I con 3,6 ml della soluzione II.

Tampone fosfato soluzione a pH 5,6. 4011200.

Soluzione I. Disciogliere 0,908 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione II. Disciogliere 1,161 g di *potassio fosfato dibasico R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Mescolare 94,4 ml della soluzione I e 5,6 ml della soluzione II. Se necessario, aggiustare il pH a 5,6 (2.2.3) usando la soluzione I o la soluzione II.

Tampone fosfato soluzione a pH 5,8. 4002100. Disciogliere 1,19 g di *sodio fosfato dibasico diidrato R* e 8,25 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Tampone acetato soluzione a pH 6,0. 4002200. Disciogliere 100 g di *ammonio acetato R* in 300 ml di *acqua R*, aggiungere 4,1 ml di *acido acetico glaciale R*, correggere il pH (2.2.3), se necessario, utilizzando *ammoniaca R* o *acido acetico R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Tampone dietilammonio fosfato soluzione a pH 6,0. 4002300. Diluire 68 ml di *acido fosforico R* a 500 ml con *acqua R*. A 25 ml di questa soluzione aggiungere 450 ml di *acqua R* e 6 ml di *dietilammina R*, portare il pH (2.2.3) a $6 \pm 0,05$, se necessario, usando *dietilammina R* o *acido fosforico R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 6,0. 4002400. Mescolare 63,2 ml di una soluzione (71,5 g/l) di *sodio fosfato dibasico R* e 36,8 ml di una soluzione (21 g/l) di *acido citrico R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 6,0 R1. 4002500. Disciogliere 6,8 g di *sodio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) con *sodio idrossido soluzione concentrata R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 6,0 R2. 4002600. A 250,0 ml di *potassio fosfato monobasico 0,2 M R* aggiungere 28,5 ml di *sodio idrossido 0,2 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 6,4. 4002800. Disciogliere 2,5 g di *sodio fosfato dibasico R*, 2,5 di *sodio fosfato monobasico R* e 8,2 g di *sodio cloruro R* in 950 ml di *acqua R*. Portare il pH (2.2.3) della soluzione a 6,4 con *sodio idrossido 1 M* o con *acido cloridrico 1 M*, se necessario. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone ftalato 0,5 M soluzione a pH 6,4. 4009200. Disciogliere 100 g di *potassio idrogeno ftalato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Aggiustare il pH (2.2.3) se necessario, usando *sodio idrossido soluzione concentrata R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 6,5 (0,1 M). 4010800. Disciogliere 13,80 g di *sodio fosfato monobasico monoidrato R* in 900 ml di *acqua distillata R*. Correggere il pH (2.2.3) usando una soluzione 400 g/l di *sodio idrossido R*. Diluire a 1000 ml con *acqua distillata R*.

Tampone imidazolo soluzione a pH 6,5. 4003000. Disciogliere 6,81 g di *imidazolo R* e 1,23 g di *magnesio solfato R* in 752 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Correggere il pH (2.2.3), se necessario, e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 6,5. 4002900. Disciogliere 60,5 g di *sodio fosfato dibasico R* e 46 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R*. Aggiungere 100 ml di *sodio edetato 0,02 M* e 20 mg di *mercurio(-ico) cloruro R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 6,6. 4003100. A 250,0 ml di *potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R*, aggiungere 89,0 ml di *sodio idrossido 0,2 M*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 6,8. 4003300. Mescolare 77,3 ml di una soluzione (71,5 g/l) di *sodio fosfato dibasico R* con 22,7 ml di una soluzione (21 g/l) di *acido citrico R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 6,8 R1. 4003400. A 51,0 ml di una soluzione (27,2 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* aggiungere 49,0 ml di una soluzione (71,6 g/l) di *sodio fosfato dibasico R*. Correggere il pH (2.2.3) se necessario. Conservare a 2-8 °C.

Tampone fosfato soluzione salina a pH 6,8. 4003200. Disciogliere 1,0 g di *potassio fosfato monobasico R*, 2,0 g di *potassio fosfato dibasico R* e 8,5 g di *sodio cloruro R* in 900 ml di *acqua R*, correggere il pH (2.2.3) se necessario, e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Tampone tris-cloridrato 1 M soluzione a pH 6,8. 4009300. Disciogliere 60,6 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* in 400 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH (2.2.3) con *acido cloridrico R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,0. 4003700. Mescolare 82,4 ml di una soluzione (71,5 g/l) di *sodio fosfato dibasico R* con 17,6 ml di una soluzione (21 g/l) di *acido citrico R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,0 (0,067 M). 4003800.

Soluzione I. Disciogliere 0,908 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione II. Disciogliere 2,38 g di *sodio fosfato dibasico R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Mescolare 38,9 ml della soluzione I con 61,1 ml della soluzione II. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,0 (0,1 M). 4008200. Disciogliere 1,361 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Correggere il pH (2.2.3) usando una soluzione (35 g/l) di *sodio fosfato dibasico R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R1. 4003900. Mescolare 250,0 ml di *potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R* e 148,2 ml di una soluzione (8 g/l) di *sodio idrossido R*, correggere il pH (2.2.3) se necessario. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R2. 4004000. Mescolare 50,0 ml di una soluzione (136 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* con 29,5 ml di *sodio idrossido 1 M* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Portare il pH (2.2.3) a $7 \pm 0,1$.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R3. 4008600. Disciogliere 5 g di *potassio fosfato monobasico R* e 11 g di *potassio fosfato dibasico R* in 900 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH (2.2.3) a 7,0 con *acido fosforico diluito R* o *sodio idrossido soluzione diluita R*. Diluire a 1000 ml con *acqua R* e mescolare.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R4. 4010200. Disciogliere 28,4 g di *sodio fosfato dibasico anidro R* e 18,2 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 500 ml con lo stesso solvente.

Tampone fosfato 0,025 M soluzione a pH 7,0. 4009400. Mescolare 1 volume di *tampone fosfato 0,063 M soluzione a pH 7,0 R* con 1,5 volumi di *acqua R*.

Tampone fosfato 0,03 M soluzione a pH 7,0. 4010300. Disciogliere 5,2 g di *potassio fosfato dibasico R* in 900 ml di *acqua per cromatografia R*. Aggiustare la soluzione a pH 7,0 ± 0,1 usando *acido fosforico R* e diluire a 1000 ml con *acqua per cromatografia R*.

Tampone fosfato 0,063 M soluzione a pH 7,0. 4009500. Disciogliere 5,18 g di *sodio fosfato dibasico anidro R* e 3,65 g di *sodio fosfato monobasico monoidrato R* in 950 ml di *acqua R* e aggiustare il pH (2.2.3) con *acido fosforico R*; diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone maleato soluzione a pH 7,0. 4003600. Disciogliere 10,0 g di *sodio cloruro R*, 6,06 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* e 4,90 mg di *anidride maleica R* in 900 ml di *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) usando una soluzione (170 g/l) di *sodio idrossido R*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Conservare a 2-8 °C ed usare entro 3 giorni.

Tampone soluzione a pH 7,0. 4003500. A 1000 ml di una soluzione contenente 18 g/l di *sodio fosfato dibasico R* e 23 g/l di *sodio cloruro R* aggiungere la quantità di una soluzione contenente 7,8 g/l di *sodio fosfato monobasico R* e 23 g/l di *sodio cloruro R*, sufficiente (circa 280 ml) a correggere il pH (2.2.3). Disciogliere nella soluzione una quantità di *sodio azide R* sufficiente a dare una soluzione 0,2 g/l.

Tampone tetrabuttilammonio soluzione a pH 7,0. 4010900. Disciogliere 6,16 g di *ammonio acetato R* in una miscela di 15 ml di una soluzione 400 g/l di *tetrabuttilammonio idrossido R* e 185 ml di *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) con *acido nitrico R*.

Soluzione salina tamponata a pH 7,2. 4004300. Disciogliere in *acqua R* 8,0 g di *sodio cloruro R*, 0,2 g di *potassio cloruro R*, 0,1 g di *calcio cloruro anidro R*, 0,1 g di *magnesio cloruro R*, 3,18 g di *sodio fosfato dibasico R* e 0,2 g di *potassio fosfato monobasico R* e diluire a 1000,0 con *acqua R*.

Soluzione salina tamponata fosfato-albumina a pH 7,2. 4004400. Disciogliere 10,75 g di *sodio fosfato dibasico R*, 7,6 g di *sodio cloruro R* e 10 g di *albumina bovina R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso

solvente. Immediatamente prima dell'uso correggere il pH (2.2.3) usando *sodio idrossido soluzione diluita R* o *acido fosforico diluito R*.

Soluzione salina tamponata fosfato-albumina a pH 7,2 R1. 4009600. Disciogliere 10,75 g di *sodio fosfato dibasico R*, 7,6 g di *sodio cloruro R* e 1 g di *albumina bovina R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Immediatamente prima dell'uso aggiustare il pH (2.2.3) usando *sodio idrossido soluzione diluita R* o *acido fosforico diluito R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,2. 4004200. Mescolare 87,0 ml di una soluzione (71,5 g/l) di *sodio fosfato dibasico R* con 13,0 ml di una soluzione (21 g/l) di *acido citrico R*.

Tampone soluzione a pH 7,2. 4004100. A 250,0 ml di *potassio fosfato monobasico 0,2 M R* aggiungere 175,0 ml di *sodio idrossido 0,2 M*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone imidazolo soluzione a pH 7,3. 4004500. Disciogliere 3,4 g di *imidazolo R* e 5,8 g di *sodio cloruro R* in *acqua R*, aggiungere 18,6 ml di *acido cloridrico 1 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone barbital soluzione a pH 7,4. 4004700. Mescolare 50 ml di una soluzione in *acqua R* contenente 19,44 g/l di *sodio acetato R* e 29,46 g/l di *barbital sodico R* con 50,5 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, aggiungere 20 ml di una soluzione (85 g/l) di *sodio cloruro R* e diluire a 250 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,4. 4004800. Aggiungere 250,0 ml di *potassio fosfato monobasico 0,2 M R* a 393,4 ml di *sodio idrossido 0,1 M*.

Tampone fosfato soluzione salina a pH 7,4. 4005000. Disciogliere 2,38 g di *sodio fosfato dibasico R*, 0,19 g di *potassio fosfato monobasico R* e 8,0 g di *sodio cloruro R* in *acqua R*. Diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone tris(idrossimetil)amminometano-sodio cloruro soluzione a pH 7,4. 4004900. Disciogliere 6,08 g di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 8,77 g di *sodio cloruro R* in 500 ml di *acqua distillata R*. Aggiungere 10,0 g di *albumina bovina R*. Correggere il pH (2.2.3) usando *acido cloridrico R*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua distillata R*.

Tampone soluzione a pH 7,4. 4004600. Disciogliere 0,6 g di *potassio fosfato monobasico R*, 6,4 g di *sodio fosfato dibasico R* e 5,85 g di *sodio cloruro R* in *acqua R*, e diluire a 1000,0 con lo stesso solvente. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone borato soluzione a pH 7,5. 4005200. Disciogliere 2,5 g di *sodio cloruro R*, 2,85 g di *sodio tetraborato R* e 10,5 g di *acido borico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Correggere il pH (2.2.3) se necessario. Conservare a 2-8 °C.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,5 (0,2 M). 4005400. Disciogliere 27,22 g di *potassio fosfato monobasico R* in 930 ml di *acqua R*, portare il pH a 7,5 (2.2.3) con una soluzione (300 g/l) di *potassio idrossido R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 7,5 (0,33 M). 4005300. *Soluzione I.* Disciogliere 119,31 g di *sodio fosfato dibasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione II. Disciogliere 45,36 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Mescolare 85 ml della soluzione I con 15 ml della soluzione II. Correggere il pH (2.2.3) se necessario.

Tampone (HEPES) soluzione a pH 7,5. 4009700. Disciogliere 2,38 g di *acido 2-[4-(2-idrossietil)piperazin-1-il]etansolfonico R* in circa 90 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH a 7,5 con *sodio idrossido soluzione R*. Diluire a 100 ml con *acqua R*.

Tampone tris(idrossimetil)amminometano a pH 7,5. 4005500. Disciogliere 7,27 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* e 5,27 g di *sodio cloruro R* in *acqua R*, e correggere il pH (2.2.3) se necessario. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone tris(idrossimetil)amminometano a pH 7,5 R1. 4005600. Disciogliere 6,057 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* in *acqua R*, e correggere il pH (2.2.3) con *acido cloridrico R* se necessario. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone sodio citrato soluzione a pH 7,8 (sodio citrato 0,034 M, sodio cloruro 0,101 M). 4009800. Disciogliere 10,0 g di *sodio citrato R* e 5,90 g di *sodio cloruro R* in 900 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH (2.2.3) mediante aggiunta di *acido cloridrico R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Tampone borato soluzione a pH 8,0 (0,0015 M). 4006000. Disciogliere 0,572 g di *sodio tetraborato R* e 2,94 g di *calcio cloruro R* in 800 ml di *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) con *acido cloridrico 1 M*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 8,0 (1 M). 4007800. Disciogliere 136,1 g di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R*, correggere il pH (2.2.3) con *sodio idrossido 1 M*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 8,0 (0,02 M). 4006100. A 50,0 ml di *potassio fosfato monobasico 0,2 M R* aggiungere 46,8 ml di *sodio idrossido 0,2 M*. Diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato 0,1 M soluzione a pH 8,0. 4008400. Disciogliere 0,523 g di *potassio fosfato monobasico R* e 16,73 g di *potassio fosfato dibasico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Tampone soluzione a pH 8,0. 4005900. A 50,0 ml di *potassio fosfato monobasico 0,2 M R* aggiungere 46,8 ml di *sodio idrossido 0,2 M*. Diluire a 200,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 8,0 R1. 4010400. Disciogliere 20 g di *potassio fosfato dibasico R* in 900 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH (2.2.3) con *acido fosforico R*. Diluire a 1000 ml con *acqua R*.

Tampone tris(idrossimetil)amminometano soluzione a pH 8,1. 4006200. Disciogliere 0,294 g di *calcio cloruro R* in 40 ml di *tris(idrossimetil)amminometano soluzione R* e correggere il pH (2.2.3) con *acido cloridrico 1 M*. Diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Tampone tris-glicina a pH 8,3. 4006300. Disciogliere 6,0 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* e 28,8 g di *glicina R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1 volume a 10 volumi con *acqua R* immediatamente prima dell'uso.

Tampone barbital soluzione a pH 8,4. 4006400. Disciogliere 8,25 g di *barbital sodico R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Tampone tris-EDTA ASB soluzione a pH 8,4. 4006500. Disciogliere 6,1 g di *tris(idrossimetil)amminometano R*, 2,8 g di *sodio edetato R*, 10,2 g di *sodio cloruro R* e 10 g di *albumina bovina R* in *acqua R*, portare il pH a 8,4 (2.2.3) usando *acido cloridrico 1 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone tris(idrossimetil)amminometano-EDTA soluzione a pH 8,4. 4006600. Disciogliere 5,12 g di *sodio cloruro R*, 3,03 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* e 1,40 g di *sodio edetato R* in 250 ml di *acqua distillata R*. Portare il pH a 8,4 (2.2.3) usando *acido cloridrico R*. Diluire a 500,0 ml con *acqua distillata R*.

Tampone tris-acetato soluzione a pH 8,5. 4006700. Disciogliere 0,294 g di *calcio cloruro R* e 12,11 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* in *acqua R*. Correggere il pH (2.2.3) con *acido acetico R*. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone barbital soluzione a pH 8,6 R1. 4006900. Disciogliere 1,38 g di *barbital R*, 8,76 g di *barbital sodico R* e 0,38 g di *calcio lattato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Tampone tris-cloridrato 1,5 M soluzione a pH 8,8. 4009900. Disciogliere 90,8 g di *tris(idrossimetil)amminometano R* in 400 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH (2.2.3) con *acido cloridrico R* e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Tampone fosfato soluzione a pH 9,0. 4008300. Disciogliere 1,74 g di *potassio fosfato monobasico R* in 80 ml di *acqua R*, aggiustare il pH (2.2.3) con *potassio idrossido 1 M* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Tampone soluzione a pH 9,0. 4007000.

Soluzione I. Disciogliere 6,18 g di *acido borico R* in *potassio cloruro soluzione 0,1 M R* e diluire a 1000,0 con lo stesso solvente.

Soluzione II. *Sodio idrossido 0,1 M.*

Mescolare 1000,0 ml della soluzione I con 420,0 ml della soluzione II.

Tampone soluzione a pH 9,0 R1. 4007100. Disciogliere 6,20 g di *acido borico R* in 500 ml di *acqua R* e correggere il pH (2.2.3) con *sodio idrossido 1 M* (circa 41,5 ml). Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Tampone borato soluzione a pH 9,0 R2. Vedere *tampone soluzione a pH 9,0 R1*.

Tampone ammonio cloruro soluzione a pH 9,5. 4007200. Disciogliere 33,5 g di *ammonio cloruro R* in 150 ml di *acqua R*, aggiungere 42,0 ml di *ammoniaca concentrata R* e diluire a 250,0 ml con *acqua R*.

Conservare in un recipiente di polietilene.

Tampone soluzione a pH 10,0.

<i>Borace R</i>	19,07 g
<i>Acido cloridrico R</i> 37 per cento	1,40 ml
<i>Sodio idrossido R</i> gocce	4,00 g

Disciogliere tutti i reattivi in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Aggiustare, se necessario, il pH. Filtrare accuratamente con filtro da 0,2 μ .

Tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0. 4007300. Disciogliere 5,4 g di *ammonio cloruro R* in 20 ml di *acqua R*, aggiungere 35,0 ml di *ammoniaca R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Tampone borato soluzione a pH 10,0. Disciogliere 0,620 g di *acido borico R* e 0,75 g di *potassio cloruro R* in 100,0 ml di *acqua R*. Aggiungere 87,8 ml di *sodio idrossido 0,1 M*.

Tampone dietanolammina soluzione a pH 10,0. 4007500. Disciogliere 96,4 g di *dietanolammina R* in *acqua R* e diluire a 400 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 0,5 ml di una soluzione (186 g/l) di *magnesio cloruro R* e correggere il pH (2.2.3) con *acido cloridrico 1 M*. Diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,4. 4011000.

Disciogliere 70 g di *ammonio cloruro R* in 200 ml di *acqua distillata R*, aggiungere 330 ml di *ammoniaca concentrata R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*. Se necessario correggere il pH a 10,4 con *ammoniaca R*.

Tampone borato soluzione a pH 10,4. 4011100.

Disciogliere 24,64 g di *acido borico R* in 900 ml di *acqua distillata R*. Correggere il pH (2.2.3) usando una soluzione (400 g/l) di *sodio idrossido R*. Diluire a 1000 ml con *acqua distillata R*.

Tampone soluzione a pH 10,9. 4007600. Disciogliere 6,75 di *ammonio cloruro R* in *ammoniaca R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Tampone glicina soluzione a pH 11,3. Mescolare una soluzione contenente 7,5 g/l di *glicina R* e 5,8 g/l di *sodio cloruro R* con un volume uguale di *sodio idrossido 0,1 M*; aggiustare il pH della miscela, se necessario.

4.2. ANALISI VOLUMETRICHE

4.2.1. REATTIVI SPECIALI PER VOLUMETRIA

I reattivi speciali per soluzioni volumetriche sono designati con le lettere RV. I reattivi speciali di adeguata qualità sono disponibili in commercio oppure possono essere preparati secondo le indicazioni seguenti.

Acido benzoico. $C_7H_6O_2$. (M_r 122,1). 2000200. [65-85-0]. Sublimare *acido benzoico R* con un apparecchio idoneo.

Acido solfanilico. $C_6H_7NO_3S$. (M_r 173,2). 2000700. [121-57-3].

Ricristallizzare *acido solfanilico R* da *acqua R* bollente. Filtrare ed essiccare fino a massa costante a 100-105 °C.

Potassio bromato. $KBrO_3$. (M_r 167,0). 2000300. [7758-01-2].

Ricristallizzare *potassio bromato R* da *acqua R* bollente. Raccogliere i cristalli ed essiccare fino a massa costante a 180 °C.

Potassio ftalato acido. $C_8H_5KO_4$. (M_r 204,2). 2000400. [877-24-7].

Ricristallizzare *potassio ftalato acido R* da *acqua R* bollente, raccogliere i cristalli a una temperatura superiore ai 35 °C ed essiccare fino a massa costante a 110 °C.

Sodio carbonato. Na_2CO_3 . (M_r 106,0). 2000500. [497-19-8].

Filtrare a temperatura ambiente una soluzione satura di *sodio carbonato R*. Insufflare lentamente nel filtrato una corrente di *anidride carbonica R*, raffreddando ed agitando costantemente. Dopo circa 2 h, raccogliere il precipitato su un filtro di vetro sinterizzato. Lavare il filtrato con *acqua R* ghiacciata contenente *anidride carbonica*. Dopo essiccamento a 100-105 °C, essiccare fino a massa costante a 270-300 °C, agitando di tanto in tanto.

Sodio cloruro. $NaCl$. (M_r 58,44). 2000600. [7647-14-5].

A 1 volume di una soluzione satura di *sodio cloruro R* aggiungere 2 volumi di *acido cloridrico R*. Raccogliere i cristalli formati e lavarli con *acido cloridrico R1*. Rimuovere l'acido cloridrico scaldando a b.m. ed essiccare i cristalli fino a massa costante a 300 °C.

Zinco. Zn . (M_r 65,4). 2000800. [7440-66-6].

Usare una qualità contenente non meno del 99,9 per cento di Zn .

4.2.2. SOLUZIONI TITOLATE

Le soluzioni titolate sono preparate secondo i metodi analitici classici. L'apparecchiatura utilizzata è verificata in modo da garantire i limiti di esattezza richiesti.

La concentrazione delle soluzioni titolate è indicata in termini di molarità. La molarità esprime la quantità di sostanza, in numero di moli, disciolta in 1 litro di soluzione. Una soluzione che contiene x moli di sostanza per litro è chiamata x M.

Le soluzioni titolate non differiscono dal titolo prescritto di più del 10 per cento. La molarità delle soluzioni titolate è determinata mediante un numero appropriato di titolazioni. La ripetibilità non deve superare lo 0,2 per cento (deviazione standard relativa).

Il titolo delle soluzioni titolate è determinato con i metodi di seguito descritti. Quando una soluzione titolata viene usata in un saggio in cui il punto di fine titolazione è determinato mediante un processo elettrochimico (per esempio, amperometria o potenziometria) il titolo viene determinato con lo stesso metodo. La composizione del mezzo in cui si effettua la determinazione del titolo dovrebbe essere la stessa di quello nel quale viene usata.

Le soluzioni più diluite di quelle descritte sono ottenute per diluizione di queste ultime con *acqua esente da anidride carbonica R*. I fattori di correzione di queste soluzioni sono gli stessi di quelli delle soluzioni titolate da cui sono state preparate le diluizioni.

Acido acetico 0,1 M. 3008900.

Diluire 6,0 g di *acido acetico glaciale R* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. A 25,0 ml della soluzione di acido acetico aggiungere 0,5 ml di *fenolfaleina soluzione R* e titolare con *sodio idrossido 0,1 M*.

Acido cloridrico 6 M. 3001500.

Diluire 618,0 g di *acido cloridrico R* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Acido cloridrico 3 M. 3001600.

Diluire 309,0 g di *acido cloridrico R* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Acido cloridrico 2 M. 3001700.

Diluire 206,0 g di *acido cloridrico R* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Acido cloridrico 1 M. 3001800.

Diluire 103,0 g di *acido cloridrico R* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Disciogliere 1,000 g di *sodio carbonato RV* in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 0,1 ml di *metilarancio soluzione R* e titolare con l'acido cloridrico fino alla comparsa di una colorazione giallo-rossastra.

Bollire per 2 min. La soluzione torna gialla. Raffreddare e continuare la titolazione fino al viraggio al giallo-rossastro.

1 ml di *acido cloridrico 1 M* equivale a 53,00 mg di Na_2CO_3 .

Acido cloridrico 0,1 M. 3002100.

Diluire 100,0 ml di *acido cloridrico 1 M* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Effettuare la titolazione prescritta per *acido cloridrico 1 M* usando 0,100 g di *sodio carbonato RV* disciolti in 20 ml di *acqua R*.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 5,30 mg di Na_2CO_3 .

Acido cloridrico alcoolico 0,1 M. 3008800.

Diluire 9,0 ml di *acido cloridrico R* a 1000,0 ml con *alcool esente da aldeide R*.

Acido cloridrico 0,5 M. Diluire 500,0 ml di *acido cloridrico 1 M* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Procedere come descritto per l'*acido cloridrico 1 M* usando 0,500 g di *sodio carbonato RV* disciolti in 20 ml di *acqua R*.

Acido cloridrico 0,05 M. Diluire 50,0 ml di *acido cloridrico 1 M* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Acido cloridrico 0,01 M. Diluire 100,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M* a 1000,0 ml con *acqua R*. Preparare al momento dell'uso.

Acido nitrico 1 M. 3003600.

Diluire 96,6 g di *acido nitrico R* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Disciogliere 1,000 g di *sodio carbonato RV* in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 0,1 ml di *metilarancio soluzione R* e titolare con l'acido nitrico fino alla comparsa di una colorazione giallo-rossastra; bollire per 2 min. La soluzione torna gialla. Raffreddare e continuare la titolazione fino al viraggio al giallo-rossastro.

1 ml di *acido nitrico 1 M* equivale a 53,00 mg di Na_2CO_3 .

Acido perclorico 0,1 M. 3003900.

Porre 8,5 ml di *acido perclorico R* in un pallone tarato contenente circa 900 ml di *acido acetico glaciale R* e mescolare. Aggiungere 30 ml di *anidride acetica R*, diluire a 1000,0 ml con *acido acetico glaciale R*, mescolare e lasciare a riposo per 24 h. Determinare il contenuto di acqua (2.5.12) senza l'aggiunta di metanolo e, se necessario, portare il contenuto di acqua tra lo 0,1 e lo 0,2 per cento aggiungendo *anidride acetica R* o *acqua R*. Lasciare a riposo per 24 h.

Determinazione del titolo. Disciogliere 0,350 g di *potassio fialato acido RV* in 50 ml di *acido acetico anidro R*, scaldando leggermente se necessario. Lasciar raffreddare proteggendo dall'aria e titolare con la soluzione di acido perclorico, usando 0,05 ml di *cristal violetto soluzione R* come indicatore. Prendere nota della temperatura della soluzione di acido perclorico al momento della titolazione. Se la temperatura alla quale è condotta la determinazione è differente da quella alla quale l'acido perclorico è stato standardizzato, il volume usato nella determinazione diventa:

$$V_c = V [1 + (t_1 - t_2)0,0011]$$

dove t_1 è la temperatura durante la standardizzazione e t_2 è la temperatura durante la determinazione, V_c è il volume corretto e V il volume osservato.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 20,42 mg di $C_8H_5KO_4$.

Acido perclorico 0,05 M. 3004000.

Diluire 50,0 ml di *acido perclorico 0,1 M* a 100,0 ml con *acido acetico anidro R*.

Acido solforico 1 M. Diluire 5,6 ml di *acido solforico R* a 100,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Disciogliere 2,000 g di *sodio bicarbonato RV* in 50 ml di *acqua R* ed aggiungere 0,1 ml di *metilarancio soluzione R*. Titolare con la soluzione di acido solforico fino ad inizio del viraggio al rosso-giallastro. Scaldare all'ebollizione per circa 2 min. La soluzione diventa di nuovo gialla. Raffreddare e titolare di nuovo fino a colorazione giallo-rossastra.

Acido solforico 0,5 M. 3007800.

Disciogliere 28 ml di *acido solforico* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Disciogliere 1,000 g di *sodio carbonato RV* in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 0,1 ml di *metilarancio soluzione R*, e titolare con acido solforico fino alla comparsa di una colorazione giallo-rossastra. Bollire per circa 2 min. Il colore della soluzione torna giallo. Raffreddare e titolare fino a ricomparsa della colorazione giallo-rossastra.

1 ml di *acido solforico 0,5 M* equivale a 53,00 mg di Na_2CO_3 .

Acido solforico 0,01 M. Diluire 200,0 ml di *acido solforico 0,05 M* a 1000,0 ml con *acqua R*. Preparare al momento dell'uso.

Acido solforico 0,005 M. Diluire 100,0 ml di *acido solforico 0,05 M* a 1000,0 ml con *acqua R*. Preparare al momento dell'uso.

Acido solforico 0,05 M. 3008000.

Diluire 100,0 ml di *acido solforico 0,5 M* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Standardizzazione. Effettuare la titolazione descritta per *acido solforico 0,5 M* usando 0,100 g di *sodio carbonato RV*, disciolti in 20 ml di *acqua R*.

1 ml di *acido solforico 0,05 M* equivale a 5,30 mg di Na_2CO_3 .

Ammonio e cerio nitrato 0,1 M. 3000100.

Agitare per 2 min una miscela di 56 ml di *acido solforico R* e 54,82 g di *ammonio e cerio nitrato R*. Aggiungere cinque porzioni consecutive, ciascuna da 100 ml, di *acqua R*, agitando dopo ogni aggiunta. Diluire la soluzione limpida a 1000,0 ml con *acqua R*. Standardizzare la soluzione dopo 10 giorni.

Determinazione del titolo. A 25 ml di ammonio e cerio nitrato soluzione aggiungere 2 g di *potassio ioduro R* e 150 ml di *acqua l*. Titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore 1 ml di *amido soluzione R*.

1 ml di *ammonio e cerio nitrato 0,1 M* equivale a 4,946 mg di As_2O_3 .

Conservare al riparo dalla luce.

Ammonio e cerio nitrato 0,01 M. 3000200.

A 100,0 ml di *ammonio e cerio nitrato 0,1 M* aggiungere, raffreddando, 30 ml di *acido solforico R* e diluire a 1000,0 con *acqua R*.

Ammonio e cerio solfato 0,1 M. 3000300.

Disciogliere 65,0 g di *ammonio e cerio solfato R* in una miscela a di 500 ml di *acqua R* e 30 ml di *acido solforico R*. Lasciar raffreddare e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. A 25 ml di ammonio e cerio solfato soluzione aggiungere 2 g di *potassio ioduro R* e 150 ml di *acqua R*. Titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore 1 ml di *amido soluzione R*.

1 ml di *ammonio e cerio solfato 0,1 M* equivale a 4,946 mg di As_2O_3 .

Ammonio e cerio solfato 0,01 M. 3000400.

A 100,0 ml di *ammonio e cerio solfato 0,1 M* aggiungere, raffreddando, 30 ml di *acido solforico R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Ammonio tiocianato 0,1 M. 3000500.

Disciogliere 7,612 g di *ammonio tiocianato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 20,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* aggiungere 25 ml di *acqua R*, 2 ml di *acido nitrico diluito R* e 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2*. Titolare con la soluzione di ammonio tiocianato fino al viraggio al giallo-rossastro.

Ammonio tiocianato 0,02 M. Diluire 20,0 ml di *ammonio tiocianato 0,1 M* a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare al momento dell'uso.

Anidride arseniosa 0,05 M. Disciogliere 2,473 g di *anidride arseniosa RV*, precedentemente seccata in *acqua R*, aggiungere 7,5 g di *sodio idrossido R* e 100 ml di *acqua R*. Agitare fino a completa dissoluzione e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Argento nitrato 0,1 M. 3005600.

Disciogliere 17,0 g di *argento nitrato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Disciogliere 0,100 g di *sodio cloruro RV* in 30 ml di *acqua R*. Titolare con la soluzione di *argento nitrato*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 5,844 mg di NaCl.

Conservare al riparo dalla luce.

Argento nitrato 0,001 M. 3009300.

Diluire 5,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* a 500,0 ml con *acqua R*.

Bario cloruro 0,1 M. 3000600.

Disciogliere 24,4 g di *bario cloruro R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 10,0 ml della soluzione di *bario cloruro* aggiungere 60 ml di *acqua R*, 3 ml di *ammoniaca concentrata R* e 0,5-1 mg di *ftaleina porpora R*. Titolare con *sodio edetato 0,1 M*. Quando la soluzione comincia a decolorarsi, aggiungere 50 ml di *alcool R* e continuare la titolazione fino a scomparsa della colorazione violetto-blu.

Bario perclorato 0,025 M. 3009600.

Diluire 500,0 ml di *bario perclorato 0,05 M* a 1000,0 ml con *tampone soluzione a pH 3,7 R*.

Bario perclorato 0,05 M. 3000700.

Disciogliere 15,8 g di *bario idrossido R* in una miscela di 75 ml di *acqua R* e 7,5 ml di *acido perclorico R*, portare la soluzione a pH 3 aggiungendo *acido perclorico R* e filtrare se necessario. Aggiungere 150 ml di *alcool R* e diluire a 250 ml con *acqua R*. Diluire a 1000,0 ml con la *tampone soluzione a pH 3,7 R*.

Determinazione del titolo. A 5,0 ml di *acido solforico 0,05 M* aggiungere 5 ml di *acqua R*, 50 ml di *tampone soluzione a pH 3,7 R* e 0,5 ml di *alzarina S soluzione R*. Titolare con la soluzione di *bario perclorato* fino al viraggio a una colorazione rosso-arancio. Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso.

Benzetonio cloruro 0,004 M. 3000900.

Disciogliere in *acqua R* 1,792 g di *benzetonio cloruro R*, precedentemente essiccato a massa costante a 100-105 °C e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Calcolare la molarità della soluzione dal contenuto di $C_{27}H_{42}ClNO_2$ nel benzetonio cloruro essiccato, determinato come segue. Disciogliere 0,350 g di sostanza essiccata in 30 ml di *acido acetico anidro R* e aggiungere 6 ml di *mercurio(-ico) acetato soluzione R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M* usando 0,05 ml di *cristal violetto soluzione R* come indicatore. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 44,81 mg di $C_{27}H_{42}ClNO_2$.

Bromuro-bromato 0,1 M. Disciogliere 2,7835 g di *potassio bromato RV* e 13,0 g di *potassio bromuro R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml.

Bromuro-bromato 0,0167 M. 3001000.

Disciogliere 2,7835 g di *potassio bromato RV* e 13 g di *potassio bromuro R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Cerio solfato 0,1 M. 3001100.

Disciogliere 40,4 g di *cerio solfato R* una miscela di 500 ml di *acqua R* e 50 ml di *acido solforico R*. Lasciar raffreddare e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. A 25,0 ml della soluzione di *cerio solfato*, aggiungere 2,0 g di *potassio ioduro R*, 150 ml di *acqua R* e 1 ml di *amido soluzione R* come indicatore. Titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,1 M*.

Ferro(-ico) ammonico solfato 0,1 M. 3001300.

Disciogliere 50,0 g di *ferro(-ico) ammonico solfato R* in una miscela di 6 ml di *acido solforico R* e 300 ml di *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. A 25,0 ml della soluzione di *ferro(-ico) ammonico solfato* aggiungere 3 ml di *acido cloridrico R* e 2 g di *potassio ioduro R*. Lasciare a riposo per 10 min. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, usando 1 ml di *amido soluzione R* come indicatore.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 48,22 mg di $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$.

Ferro(-oso) ammonico solfato 0,05 M. Disciogliere 20 g di *ferro(-oso) ammonico solfato R* in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 1000,0 ml.

Determinazione del titolo. A 256 ml aggiungere 10 ml di *acido solforico 1 M* e 1 ml di *acido fosforico R* e titolare con *potassio permanganato 0,004 M*.

1 ml di *potassio permanganato 0,004 M* equivale a 39,21 mg di $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$.

Ferro(-oso) solfato 0,1 M. 3001400.

Disciogliere 27,80 g di *ferro(-oso) solfato R* in 500 ml di *acido solforico diluito R* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. A 25,0 ml della soluzione di ferro(-oso) solfato aggiungere 3 ml di *acido fosforico R* e titolare immediatamente con *potassio permanganato 0,02 M*. Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso.

Iodio 0,05 M. 3002700.

Disciogliere 12,7 g di *iodio R* e 20 g di *potassio ioduro R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 20 ml di iodio soluzione aggiungere 1 ml di *acido acetico diluito R* e 30 ml di *acqua R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando *amido soluzione R* come indicatore.

Conservare al riparo dalla luce.

Iodio 0,01 M. 3002900.

Aggiungere 0,3 g di *potassio ioduro R* a 20,0 ml di *iodio 0,05 M* e diluire a 100,0 con *acqua R*.

Iodio 0,5 M. 3009400.

Disciogliere 127 g di *iodio R* e 200 g di *potassio ioduro R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Standardizzazione. A 2,0 ml della soluzione di iodio aggiungere 1 ml di *acido acetico diluito R* e 50 ml di *acqua R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*.

Conservare al riparo dalla luce.

Litio metossido 0,1 M. 3003300.

Disciogliere 0,694 g di *litio R* in 150 ml di *metanolo anidro R* e diluire a 1000,0 ml con *toluene R*.

Determinazione del titolo. A 10 ml di *dimetilformamide R* aggiungere 0,05 ml di una soluzione (3 g/l) di *blu timolo R* in *metanolo R* e titolare con la soluzione di litio metossido fino al viraggio ad una netta colorazione blu. Immediatamente aggiungere 0,200 g di *acido benzoico RV*. Agitare fino a dissoluzione e titolare con la soluzione di litio metossido fino ad ottenere nuovamente il viraggio ad una netta colorazione blu. Proteggere la soluzione dall'anidride carbonica atmosferica durante tutta la titolazione. Dal volume di titolante usato nella seconda titolazione ricavare il titolo esatto della soluzione di litio metossido. Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso.

1 ml di *litio metossido 0,1 M* equivale a 12,21 mg di $C_7H_6O_2$.

Magnesio cloruro 0,1 M. 3003400.

Disciogliere 20,33 g di *magnesio cloruro R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Effettuare la determinazione del magnesio mediante complessometria (2.5.11).

Piombo nitrato 0,05 M. 3009700.

Diluire 50,0 ml di *piombo nitrato 0,1 M* a 100 ml con *acqua R*.

Piombo nitrato 0,1 M. 3003100.

Disciogliere 33 g di *piombo nitrato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 20,0 ml della soluzione di piombo nitrato aggiungere 300 ml di *acqua R* ed effettuare la determinazione del piombo mediante complessometria (2.5.11).

Potassio bromato 0,1 M. Disciogliere 2,7835 g di *potassio bromato RV* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml.

Potassio bromato 0,033 M. 3004200.

Disciogliere 5,5670 g di *potassio bromato RV* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Potassio bromato 0,02 M. 3004300.

Disciogliere 3,340 g di *potassio bromato RV* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Potassio bromato 0,0167 M. 3004400.

Preparare per diluizione del *potassio bromato 0,033 M*.

Potassio bromato 0,0083 M. 3004500.

Preparare per diluizione del *potassio bromato 0,033 M*.

Potassio dicromato 0,0167 M. 3004600.

Disciogliere 4,90 g di *potassio dicromato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 20,0 ml della soluzione di potassio dicromato aggiungere 1 g di *potassio ioduro R* e 7 ml di *acido cloridrico diluito R*. Aggiungere 250 ml di *acqua R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, usando 3 ml di *amido soluzione R* come indicatore, fino al viraggio dal blu al verde chiaro.

Potassio ftalato acido 0,1 M. 3004700.

In una beuta contenente circa 800 ml di *acido acetico anidro R*, sciogliere 20,42 g di *potassio idrogeno ftalato RV*. Scaldare a b.m. fino a completa dissoluzione, proteggendo dall'umidità. Raffreddare a 20 °C e diluire a 1000,0 ml con *acido acetico anidro R*.

Potassio idrossido 1 M. 3009100.

Disciogliere 60 g di *potassio idrossido R* in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Titolare 20,0 ml della soluzione di potassio idrossido con *acido cloridrico 1 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore.

Potassio idrossido 0,1 M. 3004800.

Disciogliere 6 g di *potassio idrossido R* in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Titolare 20,0 ml della soluzione di potassio idrossido con *acido cloridrico 0,1 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore.

Potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M. 3005000.

Disciogliere 3 g di *potassio idrossido R* in 5 ml di *acqua R* e diluire a 100,0 ml con *alcool esente da aldeide R*.

Determinazione del titolo. Titolare 20,0 ml della soluzione alcoolica di potassio idrossido con *acido cloridrico 0,5 M*, usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore.

Potassio idrossido soluzione alcoolica 0,1 M. 3005100.

Diluire 20,0 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M* a 100,0 ml con *alcool esente da aldeide R*.

Potassio idrossido soluzione alcoolica 0,01 M. 3009000.

Diluire 2,0 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M* a 100,0 ml con *alcool esente da aldeide R*.

Potassio idrossido soluzione 0,5 M in alcool al 60 per cento V/V. 3004900.

Disciogliere 3 g di *potassio idrossido R* in *alcool esente da aldeide R* al 60 per cento V/V e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Titolare 20,0 ml della soluzione alcoolica di potassio idrossido con *acido cloridrico 0,5 M* usando 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R* come indicatore.

Potassio iodato 0,05 M. 3005200.

Disciogliere 10,70 g di *potassio iodato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Diluire 25,0 ml della soluzione di potassio iodato a 100,0 ml con *acqua R*. A 20,0 ml di questa soluzione aggiungere 2 g di *potassio ioduro R* e 10 ml di *acido solforico diluito R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, usando come indicatore 1 ml di *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione.

Potassio ioduro 0,001 M. 3009200.

Diluire 10,0 ml di *potassio ioduro soluzione R* (166 g/l) a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 500,0 ml con *acqua R*.

Potassio permanganato 0,02 M. 3005300.

Disciogliere 3,2 g di *potassio permanganato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente. Scaldare la soluzione a b.m. per 1 h, lasciar raffreddare e filtrare su un filtro di vetro sinterizzato.

Determinazione del titolo. A 20,0 ml della soluzione di potassio permanganato aggiungere 2 g di *potassio ioduro R* e 10 ml di *acido solforico diluito R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, usando come indicatore 1 ml di *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione.

Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso. Conservare al riparo dalla luce.

Potassio permanganato 0,002 M. Diluire 100,0 ml di *potassio permanganato 0,02 M* a 1000 ml con *acqua R*.

Potassio permanganato 0,004 M. Diluire 200,0 ml di *potassio permanganato 0,02 M* a 1000 ml con *acqua R*.

Rame solfato 0,02 M. 3001200.

Disciogliere 5,0 g di *rame solfato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 20,0 ml della soluzione di rame solfato aggiungere 2 g di *sodio acetato R* e 0,1 ml di *piridilazonaftolo soluzione R*. Titolare con *sodio edetato 0,02 M* fino al viraggio dal blu-violetto al verde brillante. Titolare lentamente verso la fine della titolazione.

Rame etilendiammina idrossido soluzione 1 M. 3008700.

Il rapporto molare tra etilendiammina e rame è $2,00 \pm 0,04$. Questa soluzione è commercialmente disponibile.

Sodio arsenito 0,1 M. 3005800.

Disciogliere una quantità di *anidride arseniosa RV* corrispondente a 4,946 g di As_2O_3 in una miscela di 20 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* e 20 ml di *acqua R*, diluire a 400 ml con *acqua R* e aggiungere *acido cloridrico diluito R* fino a soluzione neutra alla *tornasole cartina R*. Disciogliere 2 g di *sodio bicarbonato R* nella soluzione e diluire a 500,0 ml con *acqua R*.

Sodio edetato 0,1 M. 3005900.

Disciogliere 37,5 g di *sodio edetato R* in 500 ml di *acqua R*, aggiungere 100 ml di *sodio idrossido 1 M* e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Disciogliere 0,120 g di *zinco RV* in 4 ml di *acido cloridrico R1* e aggiungere 0,1 ml di *acqua di bromo R*. Eliminare l'eccesso di bromo per ebollizione, aggiungere *sodio idrossido soluzione diluita R* fino a che la soluzione sia debolmente acida o neutra ed effettuare la determinazione dello zinco mediante complessometria (2.5.11).

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 6,54 mg di Zn.

Conservare in un recipiente di polietilene.

Sodio edetato 0,05 M. Diluire 500,0 ml di *sodio edetato 0,1 M* a 1000,0 ml con *acqua R*. Preparare al momento dell'uso.

Sodio edetato 0,02 M. 3006000.

Disciogliere 7,444 g di *sodio edetato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Disciogliere 0,100 g di *zinco RV* in 4 ml di *acido cloridrico R1* e aggiungere 0,1 ml di *acqua di bromo R*. Eliminare l'eccesso di bromo per ebollizione. Trasferire la soluzione in un pallone tarato e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Trasferire 25,0 ml della soluzione in una beuta da 500 ml e diluire a 200 ml con *acqua R*. Aggiungere circa 50 mg di *xile-*

Soluzioni titolate

nolarancio miscela composta R e *esametilentetrammina R* finché la soluzione diventi rosa-violetto. Aggiungere 2 g di *esametilentetrammina R* in eccesso. Titolare con la soluzione di sodio edetato fino al viraggio dal rosa-violetto al giallo.

1 ml di *sodio edetato 0,02 M* equivale a 1,308 mg di Zn.

Sodio edetato 0,01 M. Diluire 100,0 ml di *sodio edetato 0,1 M* a 1000,0 ml con *acqua R*. Preparare al momento dell'uso.

Sodio idrossido 2 M. 3009800.

Disciogliere 84 g di *sodio idrossido R* in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Sodio idrossido 1 M. 3006300.

Disciogliere 42 g di *sodio idrossido R* in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Titolare 20,0 ml della soluzione di sodio idrossido con *acido cloridrico 1 M* usando l'indicatore prescritto nel saggio in cui viene usato *sodio idrossido 1 M*.

Se è prescritto sodio idrossido esente da carbonato, preparare come segue. Disciogliere *sodio idrossido R* in *acqua R* in modo da avere una concentrazione di 400-600 g/l e lasciare a riposo. Decantare il liquido surnatante limpido, prendendo delle precauzioni per evitare di introdurre anidride carbonica, e diluire con *acqua esente da anidride carbonica R* fino alla normalità richiesta. La soluzione soddisfa al seguente saggio. Titolare 20,0 ml di *acido cloridrico* con la stessa molarità della soluzione di sodio idrossido usando come indicatore 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R*. Al punto di fine titolazione aggiungere una quantità di *acido* sufficiente a far svanire la colorazione rosa, e concentrare la soluzione a 20 ml per ebollizione. Durante l'ebollizione aggiungere *acido* sufficiente a far svanire la colorazione rosa, che non deve riapparire durante un'ebollizione prolungata. Il volume di *acido* utilizzato non supera 0,1 ml.

Sodio idrossido 0,1 M. 3006600.

Diluire 100,0 ml di *sodio idrossido 1 M* a 1000,0 ml con *acqua esente da anidride carbonica R*.

Determinazione del titolo. Titolare 20,0 ml della soluzione di sodio idrossido con *acido cloridrico 0,1 M*, usando il punto di fine titolazione prescritto per la determinazione quantitativa nella quale viene usato il *sodio idrossido 0,1 M*.

Determinazione del titolo (per l'uso nella determinazione quantitativa dei sali alogenati di basi organiche). Disciogliere 0,100 g di *acido benzoico RV* in una miscela di 5 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e 50 ml di *alcool R*. Effettuare la titolazione (2.2.20), usando la soluzione di idrossido di sodio. Misurare il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *idrossido di sodio 0,1 M* corrisponde a 12,21 mg di $C_7H_6O_2$.

Sodio idrossido soluzione etanolica 0,1 M. 3007000.

A 250 ml di *etanolo R* aggiungere 3,3 g di *sodio idrossido soluzione concentrata R*.

Determinazione del titolo. Disciogliere 0,100 g di *acido benzoico RV* in 10 ml di *alcool R* e 2 ml di *acqua R*. Titolare con la soluzione etanolica sodio idrossido usando come indicatore 0,2 ml di *timolftaleina soluzione R*. Standardizzare immediatamente prima dell'uso.

1 ml di *sodio idrossido soluzione etanolica 0,1 M* equivale a 12,21 mg di $C_7H_6O_2$.

Sodio idrossido 0,05 M. Diluire 50,0 ml di *sodio idrossido 1 M* a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione del titolo. Procedere come descritto per il *sodio idrossido 1 M* usando *acido cloridrico 0,05 M*.

Sodio idrossido 0,02 M. Diluire 200,0 ml di *sodio idrossido 0,1 M* a 1000,0 ml con *acqua esente da anidride carbonica R*.

Sodio idrossido 0,01 M. Diluire 100,0 ml di *sodio idrossido 0,1 M* a 1000,0 ml con *acqua esente da anidride carbonica R*.

Determinazione del titolo. Procedere come descritto per il *sodio idrossido 1 M* usando *acido cloridrico 0,01 M*.

Sodio metossido 0,1 M. 3007100.

Raffreddare 175 ml di *metanolo anidro R* in *acqua R* ghiacciata e aggiungere, in piccole porzioni, circa 2,5 g di *sodio R* tagliato di recente. Quando il metallo si è disciolto, diluire a 1000,0 ml con *toluene R*.

Determinazione del titolo. A 10 ml di *dimetilformamide R* aggiungere 0,05 ml di una soluzione (3 g/l) di *blu timolo R* in *metanolo R*, e titolare con la soluzione di sodio metossido fino al viraggio ad una netta colorazione blu. Aggiungere immediatamente 0,200 g di *acido benzoico RV*. Agitare fino a dissoluzione e titolare con la soluzione di sodio metossido fino ad ottenere nuovamente il viraggio ad una netta colorazione blu. Proteggere la soluzione dall'anidride carbonica esterna durante tutta la titolazione. Dal volume di titolante utilizzato nella seconda titolazione ricavare il titolo della soluzione di sodio metossido. Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso.

1 ml di *sodio metossido 0,1 M* equivale a 12,21 mg di $C_7H_6O_2$.

Sodio nitrito 0,1 M. 3007200.

Disciogliere 7,5 g di *sodio nitrito R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. Disciogliere 0,300 g di *acido solfanilico RV* in 50 ml di *acido cloridrico diluito R* ed effettuare la determinazione dell'azoto amminico primario aromatico (2.5.8), usando la soluzione di sodio nitrito e determinando il punto di fine titolazione elettrometricamente. Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 17,32 mg di $C_6H_7NO_3S$.

Sodio periodato 0,1 M. 3009500.

Disciogliere 21,4 g di *sodio periodato R* in circa 500 ml di *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Standardizzazione. In un pallone chiuso, introdurre 20,0 ml della soluzione di sodio periodato e aggiungere 5 ml di *acido perclorico R*. Chiudere il pallone e agitare. Aggiustare la soluzione a pH 6,4 (2.2.3) usando una soluzione satura di *sodio bicarbonato R*. Aggiungere 10 ml di *potassio ioduro soluzione R*, chiudere, agitare e lasciare a riposo per 2 min. Titolare con *sodio arsenito 0,025 M* fino a che il colore giallo scompare quasi del tutto. Aggiungere 2 ml di *amido soluzione R* e titolare lentamente fino a scomparsa completa del colore.

Sodio periodato 0,05 M. Diluire 50,0 ml di *sodio periodato 0,1 M* a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare al momento dell'uso.

1,1,1-Tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano soluzione.

Clofenotano soluzione.

Soluzione satura di *clofenotano R* in *etanolo R* a temperatura compresa tra 17,5 °C e 18,5 °C.

Sodio tiosolfato 0,1 M. 3007300.

Disciogliere 25 g di *sodio tiosolfato R* e 0,2 g di *sodio carbonato R* in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 10,0 ml di *potassio bromato 0,033 M* aggiungere 40 ml di *acqua R*, 10 ml di *potassio ioduro soluzione R* e 5 ml di *acido cloridrico RI*. Titolare con la soluzione di sodio tiosolfato, usando come indicatore 1 ml di *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione.

Tetrabutylammonio idrossido 0,1 M. 3008300.

Disciogliere 40 g di *tetrabutylammonio ioduro R* in 90 ml di *metanolo anidro R*, aggiungere 20 g di *argento ossido R* finemente polverizzato ed agitare vigorosamente per 1 h. Centrifugare pochi millilitri della miscela

ed effettuare il saggio per gli ioduri sul liquido surnatante. Se si ottiene una reazione positiva, aggiungere altri 2 g di *argento ossido R* ed agitare per altri 30 min. Ripetere questo procedimento finché il liquido risulti esente da ioduri, filtrare la miscela su un filtro di vetro sinterizzato, lavare il recipiente di reazione con tre porzioni di *toluene R*, da 50 ml ciascuna e filtrare. Aggiungere i lavaggi al filtrato e diluire a 1000,0 ml con *toluene R*. Insufflare azoto secco esente da anidride carbonica nella soluzione per 5 min.

Determinazione del titolo. A 10 ml di *dimetilformamide R* aggiungere 0,05 ml di una soluzione (3 g/l) di *blu timolo* in *metanolo R* e titolare con la soluzione di tetrabutylammonio idrossido fino al viraggio ad una netta colorazione blu. Immediatamente aggiungere 0,200 g di *acido benzoico RV*. Agitare fino a dissoluzione e titolare con la soluzione di tetrabutylammonio idrossido fino ad ottenere nuovamente il viraggio ad una netta colorazione blu. Proteggere la soluzione dall'anidride carbonica atmosferica durante tutta la titolazione. Dal volume di titolante usato nella seconda titolazione ricavare il titolo esatto della soluzione di tetrabutylammonio idrossido. Determinare il titolo immediatamente prima dell'uso.

1 ml di *tetrabutylammonio idrossido 0,1 M* equivale a 12,21 mg di $C_7H_6O_2$.

Tetrabutylammonio idrossido 0,1 M in 2-propanolo. 3008400.

Preparare come descritto per *tetrabutylammonio idrossido 0,1 M* usando *2-propanolo R* invece del *toluene R* e standardizzare come descritto.

Zinco cloruro 0,05 M. 3008500.

Disciogliere 6,82 g di *zinco cloruro R*, pesato con appropriate precauzioni, in *acqua R*. Se necessario aggiungere goccia a goccia *acido cloridrico diluito R* fino a scomparsa dell'opalescenza. Diluire a 1000,0 ml con *acqua R*.

Determinazione il titolo. A 20,0 ml della soluzione di zinco cloruro aggiungere 5 ml di *acido acetico diluito R* ed effettuare la determinazione dello zinco mediante complessometria (2.5.11).

Zinco solfato 0,1 M. 3008600.

Disciogliere 29 g di *zinco solfato R* in *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente.

Determinazione del titolo. A 20,0 ml della soluzione di zinco solfato aggiungere 5 ml di *acido acetico diluito R* ed effettuare la determinazione dello zinco mediante complessometria (2.5.11).

5. Argomenti generali

5.1.	Argomenti generali sulla microbiologia	677	5.8.	Armonizzazione delle farmacopee . .	775
5.2.	Argomenti generali sui prodotti biologici	707	5.9.	Polimorfismo	779
5.4.	Solventi residui	733	5.10.	Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico . . .	783
5.5.	Tabelle alcoolimetriche	745	5.11.	Sezione Caratteri nelle monografie .	791
5.6.	Dosaggio degli interferoni	759	5.12.	Standard di Riferimento	795
5.7.	Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea	765	5.14.	Medicinali per il trasferimento genico per uso umano	803
			5.15.	Caratteristiche legate alla funzionalità degli eccipienti	817

5.1. Argomenti generali sulla microbiologia

5.1.	Argomenti generali sulla microbiologia	677	5.1.5.	Applicazione del concetto F_0 alla sterilizzazione mediante vapore delle preparazioni acquose	685
5.1.1	Metodi di preparazione di prodotti sterili	677	5.1.6.	Metodi alternativi per il controllo della qualità microbiologica	686
5.1.2.	Indicatori biologici di sterilizzazione	680	5.1.7.	Sicurezza virale	703
5.1.3.	Efficacia della conservazione antimicrobica	681	5.1.9.	Linea guida per l'uso del saggio di sterilità.	704
5.1.4.	Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche e delle sostanze per uso farmaceutico non sterili. . .	683			

5.1. ARGOMENTI GENERALI SULLA MICROBIOLOGIA

5.1.1. METODI DI PREPARAZIONE DI PRODOTTI STERILI

Per sterilità si intende l'assenza di microrganismi vivi. La sterilità di un prodotto non può essere garantita solo dai saggi; essa deve essere assicurata dall'applicazione di un processo di produzione opportunamente convalidato. È di fondamentale importanza che l'effetto sul prodotto (compreso il suo contenitore o la sua confezione) della procedura di sterilizzazione prescelta venga sperimentato in modo da assicurarne l'efficacia, da garantire il mantenimento dell'integrità del prodotto stesso e che la procedura sia stata convalidata prima di essere messa in pratica. Si raccomanda di scegliere un contenitore che sia compatibile con l'impiego del metodo ottimale di sterilizzazione. L'incapacità di seguire scrupolosamente un processo convalidato di sterilizzazione aumenta il rischio di ottenere un prodotto non sterile o un prodotto deteriorato. Una nuova convalida è effettuata tutte le volte in cui si apportano cambiamenti sostanziali nella procedura di sterilizzazione, comprese le modifiche di carico del materiale da sterilizzare. È necessario che vengano osservati i principi delle buone pratiche di fabbricazione (come descritti, ad esempio, nella linea guida della Comunità Europea alle GMP) nella messa a punto del processo di sterilizzazione, includendo, in particolare, l'uso di:

- personale qualificato con addestramento specifico,
- locali adeguati,
- attrezzature di produzione appropriate, facili da pulire e da sterilizzare,
- precauzioni adeguate per minimizzare il rischio di sovraccarico microbico prima della sterilizzazione,
- procedure convalidate per tutte le fasi di produzione critiche,
- monitoraggio ambientale e controlli in corso di produzione.

Le precauzioni necessarie per minimizzare il carico microbico di pre-sterilizzazione includono l'uso di componenti con un livello accettabilmente basso di contaminazione microbica. È consigliabile stabilire un controllo microbiologico e la definizione di limiti d'uso appropriati per gli ingredienti che sono passibili di contaminazione per la loro origine, natura o metodo di preparazione.

I metodi qui descritti si applicano principalmente all'inattivazione o alla rimozione di batteri, lieviti e muffe. Per i prodotti biologici di origine animale o umana o nei casi

in cui tale materiale è stato usato nel processo di produzione, è necessario dimostrare, durante la convalida, che il processo sia in grado di eliminare o inattivare i potenziali contaminanti virali. Una guida in proposito è fornita, ad esempio, nelle appropriate European Community Notes for Guidance.

Dove possibile, si sceglie un processo in cui il prodotto è sterilizzato nel suo contenitore finale (sterilizzazione terminale). Quando viene usato un metodo completamente convalidato di sterilizzazione terminale mediante vapore, calore secco o mediante radiazioni ionizzanti, può essere consentito un rilascio parametrico, cioè il rilascio di un lotto di prodotti sterilizzati basato sui dati di processo piuttosto che sulla base di un saggio di sterilità su un campione, previa approvazione dell'Autorità competente.

Se non è possibile effettuare la sterilizzazione terminale, è usato un processo di filtrazione attraverso un filtro che trattiene i batteri o un trattamento asettico; quando possibile si effettua un appropriato addizionale trattamento del prodotto (ad esempio il riscaldamento) nel suo contenitore finale. In ogni caso si richiedono un contenitore e una chiusura in grado di mantenere la sterilità del prodotto durante tutta la sua durata di conservazione.

Livello di Assicurazione di Sterilità (LAS)

Dove appropriato, nell'ambito dei metodi di seguito descritti, si fa riferimento al "livello di assicurazione di sterilità" o "LAS". L'assicurazione di sterilità all'interno di ciascuna unità compresa in un complesso di elementi soggetti ad un processo di sterilizzazione non può essere garantita né dimostrata. L'inattivazione di microrganismi mediante mezzi fisici o chimici segue una legge esponenziale; pertanto sussiste sempre una probabilità statistica quantunque piccola che un microrganismo possa sopravvivere al processo di sterilizzazione. Per un dato processo, la probabilità di sopravvivenza viene determinata dal numero, il tipo e la resistenza dei microrganismi presenti e dall'ambiente in cui essi vivono durante il trattamento. Il livello di assicurazione di sterilità di un processo sterilizzante è il grado di sicurezza con il quale il processo in questione rende sterili un complesso di elementi. Il LAS di un dato processo viene espresso come probabilità di persistenza di un elemento non sterile in questo complesso. Un LAS di 10^{-6} , ad esempio, indica una probabilità di non più di un microrganismo vivo in 1×10^6 unità sterilizzate del prodotto finale. Il LAS di un processo per un dato prodotto viene stabilito da appropriati studi di convalida.

METODI E CONDIZIONI DI STERILIZZAZIONE

La sterilizzazione può essere effettuata con uno dei metodi descritti di seguito. Possono essere usate modifiche o combinazioni di questi metodi purché la procedura prescelta venga convalidata, sia rispetto alla sua efficacia, sia rispetto all'integrità del prodotto, compreso il suo contenitore o la sua confezione.

Per tutti i metodi di sterilizzazione, i parametri critici del processo sono controllati in modo tale da confermare che le condizioni richieste, precedentemente determinate, si raggiungano nel lotto durante l'intero processo di sterilizzazione. Questo si applica in tutti i casi, inclusi quelli in cui vengono usate condizioni di riferimento.

STERILIZZAZIONE TERMINALE

Per la sterilizzazione terminale è di fondamentale importanza considerare la non uniformità delle condizioni fisiche e, ove rilevante, di quelle chimiche all'interno della camera di sterilizzazione. Il luogo all'interno della camera di sterilizzazione che è meno accessibile all'agente sterilizzante (per esempio, il luogo meno caldo nell'autoclave) viene determinato in base a ciascuna configurazione di carico e di ogni tipo e dimensione del contenitore o della confezione. Si determina anche il grado minimo di letalità prodotto da un ciclo di sterilizzazione e la riproducibilità del ciclo per assicurare che tutti i carichi ricevano il trattamento specificato.

Avendo stabilito un processo di sterilizzazione terminale, la conoscenza della sua resa nell'uso di routine viene acquisita, ove possibile, con il controllo e la registrazione adeguata delle condizioni fisiche e, ove rilevante, delle condizioni chimiche raggiunte all'interno del carico, nella camera di sterilizzazione, durante ogni ciclo di sterilizzazione.

Sterilizzazione mediante vapore (riscaldamento in autoclave). Si preferisce la sterilizzazione mediante vapore saturo sotto pressione, ove applicabile, specialmente per le preparazioni acquose. Le condizioni di riferimento per le preparazioni acquose in questo metodo di sterilizzazione terminale sono il riscaldamento ad una temperatura minima di 121 °C per 15 min. Si possono adottare altre combinazioni di tempo e di temperatura purché sia stato dimostrato in maniera soddisfacente che il procedimento scelto dia un livello di letalità adeguato e riproducibile nelle operazioni di routine entro le soglie stabilite di tolleranza. Le procedure e le precauzioni impiegate sono tali da conferire un LAS di 10^{-6} o migliore. Le direttive concernenti la convalida sulla base del concetto F_0 vengono fornite di seguito (5.1.5).

Si devono conoscere i parametri fisici (pressione e temperatura) raggiunti dentro l'autoclave durante il processo di sterilizzazione. La temperatura viene di solito misurata per mezzo di termosensori inseriti nei contenitori insieme ad altri elementi posizionati nella parte meno calda, precedentemente stabilita, della camera di carico. I parametri di ogni ciclo vengono opportunamente registrati, ad esempio, attraverso il grafico temperatura/tempo o attraverso qualsiasi altro mezzo idoneo.

Quando viene effettuata una valutazione biologica, questa si ottiene usando un indicatore biologico appropriato (5.1.2).

Sterilizzazione mediante calore secco. Per questo metodo di sterilizzazione terminale le condizioni di riferimento sono un minimo di 160 °C per almeno 2 h. Possono essere usate altre combinazioni di tempo e di temperatura purché sia stato dimostrato in maniera soddisfacente che il procedimento scelto dia un livello di letalità adeguato e riproducibile quando viene praticato di routine entro le soglie stabilite di tolleranza. Le procedure e le precauzioni impiegate sono tali da conferire un LAS di 10^{-6} o migliore.

La sterilizzazione al calore secco si effettua in stufe a ventilazione forzata di aria o in altre simili apparecchiature progettate per questo scopo. L'apparato sterilizzante viene caricato in modo tale che sia raggiunta una temperatura uniforme in tutto il carico. La temperatura raggiunta all'interno dello sterilizzatore durante il processo di sterilizzazione viene misurata di solito mediante termosensori inseriti in contenitori rappresentativi insieme ad altri elementi nella parte meno calda, precedentemente stabilita, dello sterilizzatore. Per tutta la durata di ogni ciclo viene registrata appropriatamente la temperatura.

Quando viene effettuata una valutazione biologica, questa si ottiene usando un indicatore biologico appropriato (5.1.2).

Il calore secco a temperatura superiore a 220 °C viene usato spesso per la sterilizzazione e la deprogenazione della vetreria. In questo caso, l'indicatore biologico (5.1.2) può essere sostituito dalla dimostrazione di una riduzione di 3 log della quantità di endotossine termoresistenti.

Sterilizzazione mediante radiazioni ionizzanti. La sterilizzazione con questo metodo viene effettuata mediante esposizione del prodotto a radiazioni ionizzanti in forma di radiazione gamma emanata da una appropriata sorgente radioisotopica (come il cobalto 60) o da un fascio di elettroni energizzati da un appropriato acceleratore elettronico.

In alcuni Paesi esistono norme che regolano l'uso di radiazioni ionizzanti ai fini della sterilizzazione, come ad esempio le European Community Notes for Guidance.

Per questo metodo di sterilizzazione terminale la dose di riferimento (dose assorbita) è di 25 kGy. Possono essere usate altre dosi purché sia stato dimostrato in maniera soddisfacente che la dose scelta permetta di ottenere un livello di letalità adeguato e riproducibile quando il processo è applicato di routine, entro le soglie stabilite di tolleranza. Le procedure e le precauzioni impiegate devono essere tali da garantire un LAS di 10^{-6} o migliore.

Durante il processo di sterilizzazione la radiazione assorbita dal prodotto viene regolarmente controllata mediante procedure dosimetriche definite che permettono una misura reale della dose ricevuta dal prodotto, indipendentemente dal tasso di radiazione impartita. I dosimetri sono tarati rispetto ad una sorgente standard di un impianto di irraggiamento di riferimento, sia al momento in cui si ricevono dal fornitore, sia ad intervalli appropriati non più lunghi di un anno.

Se viene effettuata una valutazione biologica, questa si ottiene usando un indicatore biologico appropriato (5.1.2).

Sterilizzazione mediante gas. Questo metodo di sterilizzazione è usato solo se non ci sono alternative appropriate. È di fondamentale importanza che venga assicurata la penetrazione del gas e dell'umidità nel materiale da sterilizzare e che sia seguita da un processo di eliminazione del gas in condizioni che sono state precedentemente stabilite per assicurare che ogni residuo di gas o i suoi prodotti di trasformazione nel prodotto sterilizzato siano al di sotto della concentrazione potenzialmente tossica durante l'uso del prodotto. Le norme circa questo aspetto e relative all'uso dell'ossido di etilene vengono fornite, per esempio, nelle appropriate European Community Notes for Guidance.

Ove possibile, la concentrazione del gas, l'umidità relativa, la temperatura e la durata del processo vengono misurate e registrate. Le misurazioni vengono fatte dove sia meno probabile che si raggiungano le condizioni di sterilizzazione, come determinato al momento della convalida.

L'efficacia del processo applicato ad ogni carico di sterilizzazione viene verificata usando un indicatore biologico appropriato (5.1.2).

Un campione appropriato di ogni lotto è saggiato per la sterilità (2.6.1) prima che il lotto venga rilasciato.

FILTRAZIONE

Certi principi attivi e certi prodotti che non possono essere sterilizzati in modo terminale possono essere sot-

toposti ad una procedura di filtrazione attraverso un filtro la cui efficacia sia stata dimostrata mediante un saggio di infezione microbica di prova effettuato con un idoneo microrganismo da saggio. Una sospensione di *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146, NCIMB 11091 o CIP 103020) può essere idonea. Si raccomanda di usare almeno 10^7 UFC per cm^2 di superficie filtrante attiva, di preparare la sospensione in brodo di soia-triptone e, dopo passaggio attraverso il filtro, di raccogliarla asetticamente ed incubarla in condizioni aerobiche a 32 °C. Questi prodotti necessitano di speciali precauzioni. Il processo di produzione e l'ambiente sono scelti in modo da minimizzare la contaminazione microbica e sono regolarmente soggetti a procedure idonee di controllo. L'attrezzatura, i contenitori e le chiusure e, ove possibile, gli ingredienti vanno sottoposti ad un appropriato processo di sterilizzazione. Si raccomanda di effettuare la filtrazione il più presto possibile dopo il riempimento. Le operazioni successive alla filtrazione sono effettuate in condizioni asettiche.

Le soluzioni vengono filtrate attraverso membrane che trattengono i batteri aventi pori con un diametro nominale di 0,22 μm o inferiore, o attraverso qualsiasi altro filtro avente le stesse proprietà di trattenere i batteri. Si prendono misure appropriate per evitare perdite di soluto per adsorbimento sul filtro e per evitare il rilascio di contaminanti da quest'ultimo. È necessario tener conto della contaminazione microbica prima della filtrazione, della capacità del filtro, della dimensione del lotto e della durata della filtrazione. Il filtro non deve essere usato per periodi più lunghi di quelli approvati in seguito a convalida combinata del filtro stesso e del prodotto da filtrare.

L'integrità di un filtro sterilizzante assemblato viene verificata prima dell'uso e confermata dopo l'uso per mezzo di saggi appropriati al tipo di filtro usato ed allo stadio del saggio in cui si effettua la verifica quali, ad esempio, il punto di gorgogliamento, la tenuta della pressione o i saggi sul tasso di diffusione.

A causa di altri potenziali inconvenienti dovuti al metodo della filtrazione in confronto con altri processi di sterilizzazione, è consigliabile effettuare una prefiltrazione attraverso un filtro che trattiene i batteri, nel caso in cui non si possa garantire con altri processi un basso biocarico.

PREPARAZIONE ASETTICA

L'obiettivo di un processo in asepsi è quello di mantenere la sterilità di un prodotto che è costituito da diversi componenti, ciascuno dei quali è stato sterilizzato con uno dei metodi precedentemente descritti. Ciò viene ottenuto usando condizioni ed attrezzature destinate a prevenire la contaminazione microbica. Il processo

asettico può comprendere il riempimento in asepsi di prodotti in sistemi contenitori a chiusura, la miscelazione in asepsi dei componenti di formulazioni ed il loro successivo riempimento in asepsi e confezione in asepsi.

Inoltre per mantenere la sterilità dei componenti e del prodotto durante il processo di fabbricazione, è necessario controllare attentamente:

- l'ambiente,
- il personale,
- le superfici critiche,
- la sterilizzazione del contenitore e della chiusura, e le operazioni di trasferimento,
- il periodo di conservazione massimo del prodotto prima del riempimento nel contenitore finale.

La convalida del processo include controlli appropriati su tutto quanto sopra indicato e controlli sul processo stesso sono regolarmente effettuati attraverso saggi di simulazione che usano terreni di coltura per microrganismi che vengono poi incubati ed esaminati per evidenziare la contaminazione (saggi su terreni di coltura inoculati). Inoltre, un campione appropriato di ogni lotto di prodotto sterilizzato mediante filtrazione e/o mediante un processo in asepsi è saggiato per la sterilità (2.6.1) prima che il lotto sia rilasciato.

5.1.2. INDICATORI BIOLOGICI DI STERILIZZAZIONE

Gli indicatori biologici sono preparazioni standardizzate di microrganismi selezionati usati per valutare l'efficacia di una procedura di sterilizzazione. Sono costituiti di solito da una popolazione di spore batteriche su un supporto inerte, ad esempio, una striscia di carta da filtro, un vetrino o una provetta di plastica. Il supporto inoculato è coperto in modo tale da essere protetto da qualsiasi deterioramento o contaminazione, permettendo allo stesso tempo all'agente sterilizzante di entrare in contatto con i microrganismi. Le sospensioni di spore possono essere anche contenute in fiale sigillate. Gli indicatori biologici sono preparati in modo tale che possono essere conservati in condizioni ben definite; viene anche stabilita una data di scadenza.

Microrganismi della stessa specie batterica di quella dei batteri usati per la produzione degli indicatori biologici possono essere inoculati direttamente in un prodotto liquido da sterilizzare o in un prodotto liquido simile a quello da sterilizzare. In questo caso, si deve dimostrare che il prodotto liquido non abbia alcun effetto inibitorio sulle spore usate, specialmente per quanto riguarda la loro germinazione.

Un indicatore biologico è caratterizzato dal nome della specie del batterio usato come microrganismo di riferimento, dal numero del ceppo della collezione originale, dal numero di spore vive per supporto e dal valore D. Il valore D è il valore di un parametro di sterilizzazione (tempo o dose assorbita) richiesto per ridurre il numero di organismi vivi al dieci per cento del numero originale. Il valore D è significativo solo in condizioni sperimentali definite precisamente. Solo i microrganismi dichiarati sono presenti. Possono essere usati indicatori biologici costituiti da più di una specie di batteri sullo stesso supporto. Vengono fornite informazioni sul terreno di coltura e sulle condizioni di incubazione.

Si raccomanda che gli organismi indicatori vengano posti in punti considerati meno accessibili all'agente sterilizzante, ove possibile, individuati in precedenza come tali mediante misure fisiche adeguate. Dopo l'esposizione all'agente sterilizzante, viene usata una tecnica asettica per trasferire i supporti delle spore nei terreni di coltura, in modo tale che non si verifichi alcuna contaminazione al momento dell'esame. Possono essere usati indicatori biologici che includono una fiala del terreno di coltura introdotto direttamente nella confezione che protegge il supporto inoculato.

Un organismo indicatore viene scelto in base ai seguenti criteri:

- (a) la resistenza del ceppo considerato al particolare metodo di sterilizzazione deve essere elevata rispetto alla resistenza di tutti i microrganismi patogeni e a quella dei microrganismi che potenzialmente contaminano il prodotto,
- (b) il ceppo considerato non deve essere patogeno,
- (c) il ceppo considerato deve essere facile da coltivare.

Dopo l'incubazione, la crescita del microrganismo di riferimento sottoposto alla procedura di sterilizzazione dimostra che questa procedura non è soddisfacente.

Sterilizzazione mediante vapore. Si raccomanda l'uso di indicatori biologici nella sterilizzazione mediante vapore per la convalida dei cicli di sterilizzazione. Allo scopo si raccomandano spore di *Bacillus stearothermophilus* (per esempio, ATCC 7953, NCTC 10007, NCIMB 8157 o CIP 52.81). Il numero di spore vive è superiore a 5×10^5 per supporto. Il valore D a 121 °C è superiore a 1,5 min. Deve essere verificato che l'esposizione degli indicatori biologici al vapore a 121 ± 1 °C per 6 min lasci spore rivitalizzabili e che non vi sia crescita dei microrganismi di riferimento dopo che gli indicatori biologici sono stati esposti al vapore a 121 ± 1 °C per 15 min.

Sterilizzazione mediante calore secco. Si raccomanda l'uso di spore di *Bacillus subtilis* (per esempio, var. *niger* ATCC 9372, NCIMB 8058 o CIP 77.18) per la preparazione degli indicatori biologici. Il numero di spore vive è superiore a 1×10^5 per supporto e il valore D a 160 °C è approssimativamente di 1-3 min. Il calore secco a temperature superiori a 220 °C viene usato frequentemente per la sterilizzazione e la deproteogenazione della vetreria. In questo caso, la dimostrazione di una riduzione di 3 log della quantità di endotossine batteriche termoresistenti può essere usata in sostituzione degli indicatori biologici.

Sterilizzazione mediante radiazione ionizzante. Gli indicatori biologici possono essere usati per controllare le operazioni di routine, come un'ulteriore possibilità di valutare l'efficacia di una dose stabilita di energia radiante, specialmente nel caso della sterilizzazione ottenuta con elettroni accelerati. Si raccomanda l'uso di *Bacillus pumilus* (per esempio: ATCC 27.142, NCTC 10327, NCIMB 10692 o CIP 77.25). Il numero di spore vive supera il valore di 1×10^7 per supporto. Il valore D supera 1,9 kGy. Deve essere verificato che non vi sia alcuna crescita dei microrganismi di riferimento dopo che gli indicatori biologici sono stati esposti a 25 kGy (*dose assorbita minima*).

Sterilizzazione mediante gas. L'uso degli indicatori biologici è necessario per tutte le procedure di sterilizzazione mediante gas, sia per la convalida dei cicli di sterilizzazione sia per le operazioni di routine. La sterilizzazione mediante gas è comunemente usata per i dispositivi medici, gli isolatori, i locali ed altro; l'utilizzazione dei gas in questo contesto non rientra comunque nel campo di attività della Farmacopea Europea. Si raccomanda l'uso di spore di *Bacillus subtilis* (per esempio var. *niger* ATCC 9372, NCIMB 8058 o CIP 77.18) per l'ossido di etilene. Il numero di spore vive è superiore a 5×10^5 per supporto. I parametri di resistenza sono i seguenti: il valore D è superiore a 2,5 min per un saggio che impiega 600 mg/l di ossido di etilene, a 54 °C e al 60 per cento di umidità relativa. Deve essere verificato che non vi sia alcuna crescita dei microrganismi di riferimento dopo che gli indicatori biologici sono stati esposti al saggio sopra descritto per 60 min e che esponendo gli indicatori ad un ciclo a temperatura ridotta (600 mg/l a 30 °C e al 60 per cento di umidità relativa) per 15 min le spore risultino rivitalizzabili. Per assicurare che l'indicatore biologico sia in grado di rivelare una umidificazione insufficiente, l'esposizione degli indi-

catori a 600 mg/l di ossido di etilene a 54 °C per 60 min senza umidificazione deve lasciare spore rivitalizzabili.

5.1.3. EFFICACIA DELLA CONSERVAZIONE ANTIMICROBICA

Se una preparazione farmaceutica non ha come tale una adeguata attività antimicrobica, ad essa, ed in particolare se si tratta di preparazioni acquose, possono essere aggiunti dei conservanti antimicrobici per prevenire la proliferazione o limitare la contaminazione microbica che, durante le normali condizioni di conservazione e di uso, specie per i contenitori multidose, può verificarsi in un prodotto e rappresentare un rischio di infezione per il paziente e di alterazione per la preparazione. I conservanti antimicrobici non devono essere usati in sostituzione delle pratiche di buona fabbricazione.

L'efficacia di un conservante antimicrobico può essere aumentata o diminuita dal costituente attivo della preparazione o dalla formulazione nella quale è incorporato o dal contenitore e dal sistema di chiusura utilizzato. L'attività antimicrobica della preparazione nel suo contenitore finale viene determinata per il periodo di validità, per assicurare che tale attività non sia modificata durante la conservazione. Questa valutazione può essere effettuata su campioni prelevati dal contenitore finale immediatamente prima del saggio.

Durante la fase di sviluppo di una preparazione farmaceutica, si deve dimostrare che l'attività antimicrobica della preparazione come tale o, se necessario, con l'aggiunta di uno o più conservanti fornisce una protezione appropriata dagli effetti nocivi che possono derivare dalla contaminazione o dalla proliferazione microbica durante la conservazione e l'uso della preparazione.

L'efficacia dell'attività antimicrobica può essere dimostrata mediante il saggio descritto di seguito. Il saggio non è destinato ad essere usato come controllo di routine.

SAGGIO PER L'EFFICACIA DELLA CONSERVAZIONE ANTIMICROBICA

Il saggio consiste nel contaminare artificialmente la preparazione, se possibile nel suo contenitore finale, con un inoculo prescritto di un appropriato microrganismo, nel conservare la preparazione inoculata alla temperatura prescritta, nel prelevare campioni dal contenitore ad intervalli di tempo specificati e nella conta dei microrganismi nei campioni prelevati.

Efficacia della conservazione antimicrobica

Le proprietà conservanti della preparazione sono appropriate se, nelle condizioni del saggio, si verifica una significativa diminuzione o un mancato aumento a seconda del caso, del numero di microrganismi nella preparazione inoculata nei tempi ed alla temperatura indicati. I criteri di accettazione, in termini di diminuzione del numero di microrganismi nel tempo, variano per i differenti tipi di preparazione secondo il grado di protezione previsto (vedi Tabelle 5.1.3.-1/2/3).

Microrganismi per il saggio

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027; NCIMB 8626; CIP 82.118.
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538; NCTC 10788; NCIMB 9518; CIP 4.83.
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231; NCPF 3179; IP 48.72.
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404; IMI 149007; IP 1431.83.

Per il saggio vengono usati ceppi singoli. In aggiunta ai microrganismi elencati possono essere saggiati altri ceppi o specie che possono rappresentare probabili contaminanti della preparazione. Si raccomanda, per esempio, di usare *Escherichia coli* (ATCC 8739; NCIMB 8545; CIP 53.126) solo per le preparazioni orali e *Zygosaccharomyces rouxii* (NCYC 381; IP 2021.92) per le preparazioni orali contenenti una concentrazione elevata di zucchero.

Preparazione dell'inoculo. Prima del saggio, seminare in superficie il terreno agarizzato B (2.6.12) per i batteri o il terreno agarizzato C senza l'aggiunta di antibiotici (2.6.12) per i funghi, con colture madri, preparate di recente, di ciascuno dei microrganismi specificati. Incubare le colture batteriche a 30-35 °C per 18-24 h, la coltura di *C. albicans* a 20-25 °C per 48 h e la coltura di *A. niger* a 20-25 °C per una settimana o fino a che si ottiene una buona sporulazione. Può essere necessario allestire delle sottocolture dopo rivitalizzazione prima che il microrganismo raggiunga il suo stato ottimale, ma si raccomanda di mantenere al minimo il numero di passaggi.

Per raccogliere le colture batteriche e di *C. albicans* e per disperdere e trasferire la superficie di crescita in un contenitore appropriato usare un mezzo liquido sterile, contenente 9 g/l di sodio cloruro R. Aggiungere abbastanza liquido di sospensione da ridurre la conta microbica a circa 10^8 microrganismi per millilitro. Per racco-

gliere la coltura di *A. niger* usare un mezzo liquido sterile contenente 9 g/l di sodio cloruro R e 0,5 g/l di polisorbato 80 R ed aggiustare la conta delle spore a circa 10^8 per millilitro aggiungendo la stessa soluzione.

Prelevare immediatamente un campione appropriato da ciascuna sospensione e determinare il numero di unità formanti colonia per millilitro in ciascuna sospensione mediante conta su piastra o filtrazione su membrana (2.6.12). Questo valore serve per determinare l'inoculo e la linea di base da usare nel saggio. Le sospensioni devono essere usate immediatamente.

METODO

Per contare i microrganismi vivi nei prodotti inoculati, usare il terreno agarizzato impiegato per la coltura iniziale del microrganismo corrispondente.

Inoculare una serie di recipienti del prodotto da esaminare, ciascuno con una sospensione di uno dei microrganismi in esame in modo da ottenere un inoculo di 10^5 - 10^6 microrganismi per millilitro o per grammo di preparazione. Il volume della sospensione dell'inoculo non deve essere superiore all'1 per cento del volume del prodotto. Mescolare accuratamente per assicurare una distribuzione omogenea.

Mantenere il prodotto inoculato a 20-25 °C, protetto dalla luce. Prelevare un campione appropriato da ciascun recipiente, generalmente 1 millilitro o 1 grammo al tempo zero e ad appropriati intervalli di tempo a seconda del tipo di prodotto e determinare il numero di microrganismi vivi mediante conta su piastra o filtrazione su membrana (2.6.12). Assicurarsi che qualsiasi attività antimicrobica residua del prodotto sia eliminata mediante diluizione, filtrazione o mediante l'uso di un agente neutralizzante specifico. Quando si usano procedure di diluizione occorre tener conto della ridotta sensibilità nel mettere in evidenza piccole quantità di microrganismi vivi. Quando si usa un agente inattivante specifico, la capacità del sistema di promuovere la crescita del microrganismo in esame deve essere confermata mediante controlli appropriati.

La procedura deve essere convalidata per verificare la sua capacità di dimostrare la riduzione richiesta nella conta dei microrganismi vivi.

CRITERI DI ACCETTAZIONE

I criteri per la valutazione dell'attività antimicrobica sono riportati nelle tabelle 5.1.3.-1/2/3 in termini di log della riduzione del numero di microrganismi vivi rispetto al valore ottenuto per l'inoculo.

Tabella 5.1.3.-1.- *Preparazioni parenterali ed oftalmiche*

	Riduzione logaritmica				
	6 h	24 h	7 d	14 d	28 d
Batteri A	2	3	—	—	NR*
B	—	1	3	—	NI**
Funghi A	—	—	2	—	NI
B	—	—	—	1	NI

* NR: nessun recupero

** NI: nessun incremento

I criteri A rappresentano l'efficacia raccomandata che si deve conseguire. In casi giustificati in cui i criteri A non possono essere rispettati, per esempio a causa di un aumento del rischio di reazioni indesiderate, devono essere soddisfatti i criteri B.

Tabella 5.1.3.-2.- *Preparazioni per uso topico*

	Riduzione logaritmica			
	2 d	7 d	14 d	28 d
Batteri A	2	3	—	NI
B	—	—	3	NI
Funghi A	—	—	2	NI
B	—	—	1	NI

I criteri A rappresentano l'efficacia raccomandata che si deve conseguire. In casi giustificati in cui i criteri A non possono essere rispettati, per esempio a causa di un aumento del rischio di reazioni indesiderate, devono essere soddisfatti i criteri B.

Tabella 5.1.3.-3.- *Preparazioni per uso orale*

	Riduzione logaritmica	
	14 d	28 d
Batteri	3	NI
Funghi	1	NI

I criteri sopra riportati rappresentano l'efficacia raccomandata che si deve conseguire.

5.1.4. QUALITÀ MICROBIOLOGICA DELLE PREPARAZIONI FARMACEUTICHE E DELLE SOSTANZE PER USO FARMACEUTICO NON STERILI

La presenza di alcuni microrganismi nelle preparazioni non sterili può ridurre fino ad annullare l'attività terapeutica del prodotto e costituisce un danno potenziale per la salute del paziente.

I produttori sono dunque tenuti ad assicurare una bassa carica microbica nelle forme farmaceutiche finite mediante l'applicazione delle linee guida sulle Buone Pratiche di Fabbricazione (Good Manufacturing Practice) durante la produzione, la conservazione e la distribuzione delle preparazioni farmaceutiche.

Il controllo microbiologico dei prodotti non sterili è realizzato secondo i metodi descritti nei capitoli generali 2.6.12 e 2.6.13.

I criteri di accettazione applicabili ai prodotti farmaceutici non sterili basati sulla conta dei microrganismi aerobi totali (CMAT) e sulla conta dei funghi/lieviti totali (CFLT) sono indicati nelle Tabelle 5.1.4.-1 e 5.1.4.-2. I criteri di accettazione sono basati su risultati singoli o sulla media delle conte ripetute quando si effettuano più conte (per es. la conta su piastra). Quando è prescritto un criterio di accettazione per la qualità microbiologica, è interpretato come segue:

- 10^1 UFC: numero massimo accettabile = 20
- 10^2 UFC: numero massimo accettabile = 200
- 10^3 UFC: numero massimo accettabile = 2000 e così via.

La Tabella 5.1.4.-1 comprende una lista di microrganismi specificati per i quali sono stabiliti dei criteri di accettazione. La lista non è necessariamente esaustiva e può essere necessario sottoporre a saggio una data preparazione per evidenziare la presenza di altri microrganismi a seconda della natura dei materiali di partenza e del processo di produzione.

Se è stato dimostrato che nessuno dei saggi prescritti consentirà una valida conta dei microrganismi al livello prescritto, si utilizza un metodo convalidato che ha un limite di rivelazione il più possibile vicino al criterio di accettazione indicato.

Qualità microb. delle preparaz. farmaceutiche e delle sostanze per uso farmaceutico non sterili

Tabella 5.1.4-1. Criteri di accettazione per la qualità microbiologica delle Forme Farmaceutiche non sterili

Via di somministrazione	CMAT (UFC/g o UFC/ml)	CFLT (UFC/g o UFC/ml)	Microrganismi specificati
Preparazioni non acquose per uso orale	10^3	10^2	Assenza di <i>Escherichia coli</i> (1 g o 1 ml)
Preparazioni acquose per uso orale	10^2	10^1	Assenza di <i>Escherichia coli</i> (1 g o 1 ml)
Uso rettale	10^3	10^2	—
Uso per mucosa orale Uso gengivale Uso cutaneo Uso nasale Uso auricolare	10^2	10^1	Assenza di <i>Stafilococcus aureus</i> (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 ml)
Uso vaginale	10^2	10^1	Assenza di <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Stafilococcus aureus</i> (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Candida albicans</i> (1 g o 1 ml)
Cerotti transdermici (limiti per cerotto transdermico, incluso lo strato adesivo ed il supporto)	10^2	10^1	Assenza di <i>Stafilococcus aureus</i> (1 cerotto) Assenza di <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 cerotto)
Uso inalatorio (requisiti specifici si applicano alle preparazioni liquide dispensate mediante nebulizzazione)	10^2	10^1	Assenza di <i>Stafilococcus aureus</i> (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g o 1 ml) Assenza di batteri gram-negativi resistenti ai sali biliari (1 g o 1 ml)
Disposizione apposita della Farmacopea Europea per le forme farmaceutiche orali contenenti materie prime di origine naturale (animale, vegetale o minerale) che non consentono un trattamento antimicrobico preliminare e per le quali l'Autorità competente ammette una CMAT delle materie prime superiore a 10^3 UFC per grammo o per millilitro	10^4	10^2	Non più di 10^2 UFC di batteri gram-negativi resistenti ai sali biliari (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Salmonella</i> (10 g o 10 ml) Assenza di <i>Escherichia coli</i> (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Stafilococcus aureus</i> (1 g o 1 ml)
Disposizione apposita della Farmacopea Europea per i medicinali a base di piante composte esclusivamente da una o più droghe vegetali (intere, in frammenti o in polvere): - medicinali a base di piante ai quali si aggiunge acqua bollente prima dell'uso - medicinali a base di piante ai quali non si aggiunge acqua bollente prima dell'uso	10^7 10^5	10^5 10^4	Non più di 10^2 UFC di <i>Escherichia coli</i> (Vedi Appendice) (1 g o 1 ml) Non più di 10^3 UFC di batteri gram-negativi resistenti ai sali biliari (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Escherichia coli</i> (1 g o 1 ml) Assenza di <i>Salmonella</i> (10 g o 10 ml)

Applicazione del concetto F_0 alla sterilizzazione mediante vapore delle preparazioni acquose

Tabella 5.1.4-2. *Criteri di accettazione per la qualità microbiologica delle sostanze per uso farmaceutico non sterili*

	CMAT (UFC/g o UFC/ml)	CFLT (UFC/g o UFC/ml)
Sostanze per uso farmaceutico	10^3	10^2

Oltre ai microrganismi indicati nella Tabella 5.1.4.-1, la significatività della presenza di altri microrganismi è valutata rispetto a diversi fattori:

- uso del prodotto: rischio variabile a seconda della via di somministrazione (occhi, naso, tratto respiratorio);
- natura del prodotto: la sua capacità di favorire la crescita microbica, la presenza di un'adeguata conservazione antimicrobica;
- modo di somministrazione;
- categorie di pazienti previsti: il rischio differisce tra neonati, bambini, persone debilitate;
- l'uso di agenti immunosoppressori, corticosteroidi;
- presenza di patologie, sanguinamento, danno d'organo.

Quando giustificato, una valutazione del rischio dei principali fattori in gioco è condotta da personale con formazione specifica in analisi microbiologica ed interpretazione dei dati microbiologici. Per le materie prime questa valutazione tiene conto del trattamento al quale è sottoposto il prodotto, delle tecniche correnti di controllo e della disponibilità di materiali della qualità desiderata.

Appendice: disposizione apposita della Farmacopea Europea per i medicinali a base di piante composti esclusivamente da una o più droghe vegetali (intere, in frammenti o in polvere): saggio quantitativo per *E. Coli*

Operare secondo il protocollo seguente.

Preparazione del campione e pre-incubazione. Preparare un campione utilizzando una diluizione 1:10 di almeno 1 g del prodotto in esame come descritto nel capitolo generale 2.6.12, ed utilizzare quantità corrispondenti a 0,1 g, 0,01 g e 0,001 g (o 0,1 ml, 0,01 ml e 0,001 ml) per inoculare una quantità appropriata di campione (determinata come prescritto nella sezione 3-4 del capitolo generale 2.6.13 nel terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina. Mescolare ed incubare a 30-35 °C per 18-24 h.

Selezione del campione e sottocoltura. Agitare il contenitore, trasferire 1 ml di terreno liquido di peptone di soia e caseina in 100 ml di terreno liquido di MacCon-

key ed incubare a 42-44 °C per 24-48 h. Allestire una sottocoltura su piastra di agar MacConkey a 30-35 °C per 18-72 h.

Interpretazione. La crescita di colonie indica la possibile presenza di *E. Coli*. Questa è confermata dai saggi di identificazione.

Registrare la quantità più piccola di prodotto che dà un risultato positivo e la quantità più grande di prodotto che dà un risultato negativo.

Determinare il numero probabile di batteri con l'ausilio della tabella riportata di seguito.

Risultati ottenuti con una quantità di prodotto di			Numero probabile di batteri per grammo o millilitro di prodotto
0,1 g o 0,1 ml	0,01 g o 0,01 ml	0,001 g o 0,001 ml	
+	+	+	$> 10^3$
+	+	-	$< 10^3$ e $> 10^2$
+	-	-	$< 10^2$ e > 10
-	-	-	< 10

5.1.5. APPLICAZIONE DEL CONCETTO F_0 ALLA STERILIZZAZIONE MEDIANTE VAPORE DELLE PREPARAZIONI ACQUOSE

Questo paragrafo è pubblicato a titolo di informazione.

Il valore F_0 del processo di sterilizzazione mediante vapore saturo esprime la letalità, in termini di tempo in minuti ad una temperatura di 121 °C, conseguita con il processo sul prodotto nel suo contenitore finale con riferimento a microrganismi che hanno un valore Z teorico di 10.

Il valore F_0 totale del processo considera le fasi di riscaldamento e di raffreddamento del ciclo e può essere calcolato mediante integrazione dei tassi di letalità rispetto al tempo ad intervalli discreti di temperatura.

Quando un ciclo di sterilizzazione mediante vapore viene scelto sulla base del concetto F_0 , si deve assicurare che esso permetta di ottenere in maniera costante un'adeguata sicurezza di sterilità. Oltre alla convalida del processo, può essere anche necessario effettuare un controllo microbiologico continuo e rigoroso durante la produzione di routine per dimostrare che i parametri microbiologici sono compresi nei livelli di tolleranza definiti in modo da dare un LAS (Livello di Assicurazione di Sterilità) di 10^{-6} o superiore.

Nell'ambito della sterilizzazione mediante vapore, il valore Z rappresenta la resistenza al calore di un

microrganismo in relazione ai cambiamenti di temperatura. Il valore Z è il cambiamento di temperatura richiesto per alterare il valore D di un fattore 10.

Il valore D (o valore di riduzione decimale) è il valore di un parametro di sterilizzazione (durata o dose assorbita) richiesto per ridurre il numero di microrganismi vivi al 10 per cento del numero originale. Esso ha significato soltanto in condizioni sperimentali definite in modo preciso.

Applicare le seguenti relazioni matematiche:

$$F_0 = D_{121}(\log N_0 - \log N) = D_{121} \log IF$$

D_{121} = valore D delle spore di riferimento (5.1.2) a 121 °C,

N_0 = numero iniziale di microrganismi vivi,

N = numero finale di microrganismi vivi,

IF = fattore di inattivazione.

$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2}$$

D_1 = valore D del microrganismo alla temperatura T_1 ,

D_2 = valore D del microrganismo alla temperatura T_2 .

$$IF = \frac{N_0}{N} = 10^{t/D}$$

t = tempo di esposizione,

D = valore D del microrganismo nelle condizioni di esposizione.

5.1.6. METODI ALTERNATIVI PER IL CONTROLLO DELLA QUALITÀ MICROBIOLOGICA

Il capitolo seguente è pubblicato per informazione.

1. INTRODUZIONE GENERALE

Lo scopo di questo capitolo è quello di facilitare l'interpretazione e l'uso di metodi microbiologici alternativi, quando essi permettono di assicurare il controllo microbiologico a costo migliore e di aumentare l'assicurazione della qualità dei prodotti farmaceutici. Questi metodi alternativi possono anche trovare applicazione nel monitoraggio ambientale.

I metodi microbiologici descritti nella Farmacopea Europea sono stati utilizzati per quasi un secolo e questi metodi, per la determinazione del numero e l'identificazione dei microrganismi, sono ancora molto utili ai microbiologi. Durante questi anni essi sono

stati preziosi per controllare ed assicurare la produzione di prodotti farmaceutici sicuri dal punto di vista microbiologico. Tuttavia i metodi microbiologici convenzionali sono lenti e i risultati sono disponibili solo dopo un periodo di incubazione fino a 14 giorni. I risultati dei metodi microbiologici convenzionali permettono dunque raramente un intervento correttivo proattivo.

Nel corso degli ultimi anni sono stati introdotti metodi alternativi di controllo della qualità microbiologica e alcuni di questi metodi si sono rivelati capaci di dare risultati in tempi reali (o quasi reali) con la possibilità di un'azione correttiva più precoce. Questi nuovi metodi possono anche offrire miglioramenti significativi della qualità dei controlli.

In questo capitolo informativo si descrive un insieme di nuovi metodi microbiologici che offrono applicazioni farmaceutiche. Per ogni metodo è riportato il principio sul quale si basa e sono poi discussi i vantaggi e gli svantaggi del metodo stesso. Gli usi potenziali descrivono le applicazioni che possono essere previste in base ai principi sul quale il metodo si basa. Il suo obiettivo non è quello di suggerire quale sarà l'applicazione effettiva. Infine sono sottolineate le considerazioni generali per la convalida del metodo, illustrate da esempi specifici per ogni tipo di metodo. Per informazione, un protocollo di convalida dettagliato è descritto alla fine del capitolo.

Questo capitolo non ha come obiettivo di raccomandare un metodo piuttosto che un altro, né di fornire un elenco esclusivo o esaustivo di metodi alternativi che possono essere utilizzati per il controllo microbiologico farmaceutico. Questo capitolo informativo comunque può essere utilizzato nel processo di scelta di un metodo microbiologico alternativo, come complementare o come alternativa agli approcci microbiologici convenzionali e per fornire una guida nel processo di convalida del metodo scelto. In questo settore in costante e rapida evoluzione, possono trovarsi nuovi metodi e le indicazioni che sono riportate in questo capitolo possono essere ugualmente applicabili.

Vi sono 3 grandi tipi di determinazioni specifiche per i saggi microbiologici. Questi includono:

- saggi qualitativi per verificare la presenza o l'assenza di microrganismi;
- saggi quantitativi per determinare il numero dei microrganismi;
- saggi di identificazione.

1-1. SAGGI QUALITATIVI PER LA PRESENZA O L'ASSENZA DI MICRORGANISMI

Nell'analisi microbiologica convenzionale questo tipo di saggio è caratterizzato dall'uso della torbidità o di

altri cambiamenti correlati alla crescita nel terreno di coltura come evidenza della presenza di microrganismi vitali nel campione in esame. L'esempio più comune di questo tipo di saggio è il saggio di sterilità. Altri esempi di questo tipo di saggio sono quei saggi disegnati per valutare la presenza o l'assenza di un particolare tipo di microrganismo vitale nel campione.

1-2. SAGGI QUANTITATIVI PER LA DETERMINAZIONE DEL NUMERO DEI MICRORGANISMI

I metodi della filtrazione su membrana e della conta su piastra sono i metodi usati convenzionalmente per stimare il numero di microrganismi vitali presenti in un campione. Il metodo del Numero Più Probabile (NPP) è un altro esempio di questi metodi. L'NPP è stato sviluppato per stimare il numero di microrganismi vitali presenti in un campione che non si presta ad una numerazione diretta su piastra.

1-3. SAGGI DI IDENTIFICAZIONE

La caratterizzazione biochimica e morfologica di un microrganismo sconosciuto è il metodo classico di identificazione utilizzato nei saggi di farmacopea. I metodi sviluppati di recente hanno permesso di razionalizzare e di automatizzare alcuni aspetti di questa identificazione, particolarmente per ciò che concerne il trattamento, l'analisi e la conservazione dei dati. Alcuni nuovi approcci che sono stati integrati all'interno di questi metodi includono reazioni biochimiche, l'utilizzo di substrati contenenti carbonio, la caratterizzazione della composizione in acidi grassi, la determinazione del profilo mediante endonucleasi di restrizione e l'utilizzo dell'analisi della sequenza del DNA 16S.

2. PRINCIPI GENERALI DEI METODI ALTERNATIVI

I metodi microbiologici alternativi utilizzano metodi di rivelazione diretti o indiretti; in alcuni casi l'amplificazione del segnale si ottiene mediante metodi di arricchimento. Al fine di tener conto di queste differenze e per ragioni di convenienza all'interno di questo capitolo, i metodi per il controllo della qualità microbiologica sono suddivisi in 3 categorie:

- metodi basati sulla crescita, nei quali si ottiene generalmente un segnale rivelabile al termine di un periodo di sottocoltura;
- misura diretta, mediante la quale le singole cellule sono differenziate e visualizzate;
- analisi dei componenti cellulari, mediante la quale l'espressione di componenti cellulari specifici permette una misura indiretta della presenza microbica.

In alcuni casi queste distinzioni sono artificiali, ma consentono di creare una classificazione operativa.

2-1. METODI BASATI SULLA CRESCITA

2-1-1. Rivelazione precoce della crescita

2-1-1-1. Aspetti critici generali dei metodi basati sulla rivelazione precoce della crescita

Questi metodi dipendono in modo critico dalla crescita microbica in grado di produrre un numero rivelabile di microrganismi. A causa dei livelli tipicamente bassi di contaminazione microbica nei prodotti farmaceutici, la rivelazione può durare 24 h o anche di più, specialmente nel caso dei lieviti e delle muffe. Un incremento della sensibilità si ottiene con i prodotti filtrati. In questo caso, dopo filtrazione, la membrana è incubata nel terreno e il risultato è espresso in termini di presenza o assenza nella quantità di prodotto corrispondente al volume filtrato. Questi sistemi, dal momento che utilizzano un passaggio di incubazione in terreno liquido, non forniscono informazioni quantitative, ma permettono solo di stabilire la presenza o l'assenza all'interno della quantità di prodotto analizzato. L'analisi di quantità differenti del campione consente una determinazione semi-quantitativa (saggio limite). Il principale vantaggio di questi metodi, rispetto ai metodi classici, risiede spesso nella loro capacità di permettere il trattamento simultaneo di un largo numero di campioni e, potenzialmente, di produrre un risultato in un tempo più breve.

2-1-1-2. Metodi elettrochimici

Principi di misura. La moltiplicazione e l'attività metabolica dei microrganismi, in un terreno di crescita appropriato, provocano la produzione di metaboliti ionici fortemente carichi a partire da nutrienti organici a debole carica, inducendo così una modificazione delle proprietà elettriche del terreno. Questi cambiamenti di impedenza (misurati mediante conduttanza o capacità) sono monitorati per mezzo di elettrodi inseriti nei recipienti di coltura. Il punto finale di misura è il tempo richiesto per rivelare una variazione di impedenza pre-determinata, il tempo di rivelazione è inversamente proporzionale alla dimensione iniziale dell'inoculo. Per i lieviti e le muffe, che provocano solo piccole variazioni di impedenza elettrica, si può effettuare una misura indiretta della conduttanza utilizzando un serbatoio di potassio idrossido. Si può effettuare inoltre anche una misura diretta della capacità.

Aspetti critici. La rivelazione automatizzata con generazione di dati elettronici, il grafico della variazione di impedenza che riflette la curva di crescita dei microrganismi e la loro riduzione della durata del saggio a 48 h.

Usi potenziali. Il dosaggio microbiologico degli antibiotici, l'efficacia della protezione antimicrobica, la presenza/assenza nella quantità di campione presa in esame per la conta totale dei microrganismi vitali.

2-1-1-3. Misura del consumo o della produzione di gas

Principi di misura. I microrganismi in fase di moltiplicazione e di metabolismo attivi utilizzano appropriati terreni di crescita, producendo metaboliti o eliminando specifici nutrienti. In uno degli approcci possibili, i cambiamenti nella composizione gassosa dello spazio di testa possono essere monitorati all'interno di recipienti di coltura chiusi mediante trasduttori di pressione che rispondono alla produzione di un gas (per esempio CO₂) o al consumo di un gas (per esempio O₂).

Si possono utilizzare altri indicatori compresa la rivelazione colorimetrica di CO₂.

Aspetti critici. Per microrganismi a crescita lenta come i micobatteri, il metodo permette una rivelazione più rapida. Non c'è una rivelazione diretta tra la carica microbiologica iniziale e il punto finale di rivelazione. La temperatura di incubazione e l'algoritmo per il trattamento dei dati influenzano significativamente i risultati.

Usi potenziali. Prodotti nei quali possono essere presenti microrganismi a crescita lenta.

2-1-1-4. Bioluminescenza

Principi di misura. L'adenosina trifosfato (ATP) è un marcatore ben documentato della vitalità cellulare. Questo metodo consiste nel provocare la liberazione di ATP da parte dei microrganismi utilizzando un appropriato agente di estrazione e nell'effettuare successivamente un dosaggio quantitativo mediante il sistema enzimatico luciferina/luciferasi, il quale emette una luce di intensità proporzionale alla quantità di ATP presente. La luce emessa è misurata con un bioluminometro ed è espressa in unità di luce relative (ULR) nel corso di bioluminescenza in terreno liquido. Il valore ULR ottenuto dal campione è confrontato con un determinato valore soglia a 2 o 3 volte l'ULR del terreno utilizzato per la coltura o per la sospensione del campione. Il risultato è positivo se l'ULR ottenuto con il campione in esame è maggiore del valore soglia. Questo metodo prevede una variante che consiste nel trattenere i microrganismi su una membrana, successivamente nel farli crescere mediante incubazione in un terreno agarizzato; le microcolonie che si formano sono rivelate per mezzo di una fotocamera con dispositivo ad accoppiamento di carica (CCD) e i risultati sono espressi in micro UFC. Questo è un metodo quantitativo, ma ha un intervallo di linearità.

Aspetti critici. Se il prodotto campionato ha un livello di contaminazione batterica (circa 500-1000 UFC per

quantità di campione esaminato), la rivelazione è rapida (1 h). Per livelli di contaminazione inferiore a 100 UFC per quantità di campione esaminata è necessario aumentare il numero di microrganismi mediante un passaggio di incubazione in un terreno di coltura (liquido o solido agarizzato) per 12-48 h in accordo con il metodo impiegato. Dopo questo tempo di incubazione, una singola cellula capace di crescita si moltiplicherà per 1000 e potrà essere rivelata. La produzione di ATP varia da un microrganismo all'altro, i batteri ne contengono 1-10 fg per cellula e i funghi intorno a 100 fg per cellula; molti altri fattori possono influenzare in contenuto di ATP della cellula: la specie, la fase di crescita, lo stato nutrizionale, lo stress o l'età cellulare. Dunque non è possibile effettuare una conta direttamente dal valore ULR. In aggiunta, la torbidità e il calore del campione possono influire sulla reazione, sia amplificandola (da qui un aumento del segnale luminoso emesso) sia attenuandola (da qui una diminuzione del segnale luminoso emesso). A causa della sua natura enzimatica, la reazione è ugualmente sensibile all'interferenza di prodotti in grado di inibire o di ridurre l'attività enzimatica, ma deve essere accuratamente investigata durante il processo di convalida. La reazione è anche sensibile alla presenza di nucleotidi fosfato come l'ADP o il GTP che possono interferire producendo ATP in presenza di adenilato chinasi. Questo enzima è usato per aumentare la sensibilità di alcuni metodi di bioluminescenza: in questo caso è aggiunto un terzo reattivo contenente ADP e dell'ATP supplementare è prodotta dai microrganismi in presenza dell'adenilato chinasi.

Usi potenziali. Saggi per l'efficacia della conservazione antimicrobica, la presenza/assenza di microrganismi nella quantità di campione esaminata durante la conta totale dei germi aerobi vitali (bioluminescenza in provetta o in piastra di microtitolazione), il monitoraggio ambientale e della qualità dell'acqua, la conta totale dei germi aerobi vitali (bioluminescenza su membrana). Il metodo è applicabile ai prodotti filtrabili e a quelli non filtrabili.

2-1-1-5. Microcalorimetria

Principi di misura. Il catabolismo microbico genera calore che può essere accuratamente misurato mediante microcalorimetria. La produzione di calore può essere rivelata ponendo il campione contaminato in una fiala sigillata contenente un terreno di crescita, la quale sarà posizionata all'interno di un calorimetro. L'utilizzo di una strumentazione sensibile consente di stabilire le curve di crescita microbica. La calorimetria di flusso può permettere la rivelazione di alte cariche microbiche.

Aspetti critici. Teoricamente, questo metodo non richiede una crescita microbica ma semplicemente un'attività catabolica. Tuttavia, è necessario un numero minimo di microrganismi per avere delle misure termiche superiori alla linea di base e questo di solito si ottiene utilizzando un metodo di arricchimento.

Usi potenziali. Saggio per l'efficacia della conservazione antimicrobica.

2-1-1-6. Turbidimetria

Principi di misura. La crescita microbica produce dei cambiamenti rivelabili dall'opacità dei terreni, che può essere determinata quantitativamente con accuratezza mediante misure di densità ottica ad una lunghezza d'onda specificata. Il metodo più semplice è quello di effettuare le misure mediante uno spettrofotometro standard, con un intervallo di lunghezza d'onda che va generalmente da 420 nm a 615 nm. Sistemi automatizzati alternativi permettono la lettura delle piastre di microtitolazione ed effettuano misure in continuo, consentendo una rivelazione precoce dei cambiamenti di densità ottica.

Aspetti critici. Sono stati fatti dei tentativi per dedurre mediante estrapolazione la carica microbiologica iniziale a partire dalla durata della rivelazione, ma sono limitati ai microrganismi sani che presentano caratteristiche di crescita riproducibili. I metodi non permettono di distinguere tra microrganismi vitali e non vitali.

Usi potenziali. Attraverso le curve di taratura, la determinazione delle dimensioni dell'inoculo delle sospensioni microbiche da utilizzare nei saggi di farmacopea. Nel metodo automatizzato, la determinazione della sensibilità ai conservanti dei microrganismi sottoposti a saggio recuperati dai prodotti finiti.

2-1-1-7. Metodi che utilizzano i fagi

Principi di misura. I virus batterici (batteriofagi, fagi) possono infettare la cellula ospite e causare o la lisi o l'incorporazione del loro materiale genetico e l'espressione di nuove proteine. La loro elevata specificità per la cellula ospite può essere utilizzata nei metodi di rivelazione che utilizzano come punto finale le conseguenze dell'infezione. Questi punti finali includono: la formazione di una placca su un tappeto solido di batteri, la rivelazione dei componenti intracellulari liberati a seguito della lisi batterica (possibilmente mediante metodo colorimetrico); l'osservazione degli effetti di origine fagica come la nucleazione di cristalli di ghiaccio o la bioluminescenza dopo infezione con un fago geneticamente modificato. Colifagi marcati con un marcatore fluorescente possono essere utilizzati per la rivelazione selettiva dell'*E. coli* vitali, in combinazione con la Tecnica di Filtrazione e Epifluorescenza Diretta TFED (vedere 2-2-3.)

Aspetti critici. La rivelazione mediante fagi può essere utilizzata sia in caso di colture omogenee che in caso di colture miste, la specificità dell'ospite permette sia la rivelazione che l'identificazione. Affinché possano essere rivelati, i punti finali richiedono spesso un numero minimo di cellule bersaglio in modo da assicurare un segnale rivelabile, e in caso di debole carica microbiologica è necessario un arricchimento. Il processo di infezione virale può essere influenzato negativamente dalla composizione del campione. In molti casi, la forte specificità dell'ospite si oppone alla rivelazione di un ampio spettro di contaminanti microbici.

Usi potenziali. Questi metodi sono usati principalmente per scopi di ricerca, con qualche sviluppo commerciale mirato principalmente all'utilizzo clinico e alimentare. Questi metodi possono essere utilizzati probabilmente per la determinazione della presenza/assenza di microrganismi specifici.

2-1-2. Sviluppo di terreni destinati a migliorare la rivelazione

Principi di misura. I terreni di coltura esistono da molti anni e sono stati costantemente migliorati. Una recente innovazione è rappresentata dalla comparsa di substrati cromogeni, i quali sono usati sempre più frequentemente in microbiologia clinica e alimentare. La capacità di rivelare la presenza di enzimi specifici utilizzando substrati appropriati ha portato allo sviluppo di un vasto numero di metodi per l'identificazione dei microrganismi che si avvalgono di metodi automatizzati o manuali. L'incorporazione di questi substrati in un terreno di isolamento primario, selettivo o non selettivo, può eliminare la necessità di ulteriori sottocolture e saggi biochimici per identificare alcuni microrganismi. Conseguentemente i terreni di coltura cromogeni, liquidi o solidi, sono designati per produrre specifiche attività enzimatiche per la rivelazione e la differenziazione dei microrganismi. In questi terreni particolari, dei substrati definiti sono introdotti nella formulazione e sono idrolizzati dagli enzimi cellulari specifici di un dato batterio o fungo durante la crescita. Questi substrati sono scelti in accordo con l'attività enzimatica diagnostica ricercata e sono associati a degli indicatori colorati.

Aspetti critici. L'utilizzo di terreni innovativi presenta numerosi vantaggi: una migliore discriminazione delle colonie nelle colture miste, facilità d'impiego e di interpretazione, inoltre tempi di risposta più brevi perché la crescita e l'identificazione dei microrganismi sono simultanee. Tuttavia, la convalida dei terreni deve essere effettuata con cautela per garantire una combinazione di specificità, selettività e robustezza. La qualità del segnale non si basa solo sulla scelta accurata dell'enzima utilizzato come base della rivelazione, dal

momento che questi enzimi possono essere presenti in differenti generi, ma anche sulle caratteristiche fisico-chimiche del terreno come il pH.

Usi potenziali. La rivelazione di microrganismi specifici come *E. coli*, coliformi, *Salmonella*, *Staphylococcus* e *Streptococcus* spp; di grande utilità possono essere i saggi per verificare la presenza/assenza. Anche i lieviti possono essere rivelati utilizzando terreni di coltura cromogeni.

2-2. MISURE DIRETTE

2-2-1. Citometria in fase solida

Principi di misura. Un filtro a membrana è utilizzato per trattenere i contaminanti microbici. I microrganismi sono colorati mediante marcatura con un fluoroforo (indicatore di vitalità), prima o dopo filtrazione. Il fluoroforo è un substrato coniugato, inizialmente non fluorogenico, che richiede l'attività di enzimi intracellulari che scindono il substrato e rilasciano la regione fluorescente. È necessaria una membrana cellulare intatta per trattenere il fluoroforo all'interno del citoplasma. La rivelazione è poi effettuata mediante eccitazione con laser seguita da scansione automatica, la quale permette la visualizzazione dei singoli microrganismi fluorescenti vitali. Un software appropriato consente di discriminare tra microrganismi vitali e particelle auto-fluorescenti. L'alta sensibilità e la rapidità del metodo permettono la rivelazione dei contaminanti microbici quasi in tempo reale. Si può ottenere la conta totale delle cellule utilizzando un colorante a fluorescenza permanente.

Aspetti critici. Possono essere rivelati microrganismi vitali, metabolicamente attivi, difficili da coltivare o non coltivabili. Questo può comportare la necessità di una nuova definizione dei limiti di contaminazione microbica stabiliti per i campioni in esame. La rivelazione delle spore esige che abbia avuto inizio la germinazione. La rivelazione delle singole cellule è possibile, ma la loro identificazione attualmente non fa parte del protocollo del saggio di routine. L'impiego di anticorpi fluorescenti può offrire la possibilità di una rivelazione selettiva. Falsi positivi possono aversi a causa di particelle auto-fluorescenti, poiché quest'ultime difficilmente possono essere distinte dai microrganismi.

Usi potenziali. Metodo rapido e sensibile per la valutazione non specifica della carica microbiologica. Ha trovato applicazione nei saggi sull'acqua di qualità farmaceutica.

2-2-2. Citometria a flusso

Principi di misura. I microrganismi in sospensione, marcati per mezzo di fluorofori, possono essere rivelati nel momento in cui passano in un citometro a flusso. L'im-

piego di un substrato fluoroforo indicatore di vitalità permette di differenziare tra microrganismi vitali e particelle non vitali (vedere 2-2-1.).

Aspetti critici. La citometria a flusso può essere applicata per l'analisi microbiologica sia di prodotti filtrabili che non filtrabili. L'analisi mediante citometria a flusso consente una rivelazione quasi in tempo reale, ma non ha una sensibilità pari a quella della citometria in fase solida. Per ottenere la sensibilità richiesta per le applicazioni farmaceutiche, è spesso necessario aggiungere un passaggio di incubazione in terreno di coltura e in questo caso il metodo diviene un metodo basato sulla crescita. L'analisi di campioni non filtrabili può richiedere delle diluizioni in serie per ottimizzare l'esecuzione, che può essere influenzata in modo significativo dalla dimensione delle particelle. Con l'eccezione della filtrabilità, considerazioni simili si possono applicare anche alla citometria in fase solida. La formazione di agglomerati di batteri può essere un problema (per esempio *S. aureus*).

Usi potenziali. A differenza della citometria in fase solida, questo metodo offre la possibilità di rivelare e quantificare la carica microbica nei prodotti che contengono quantità significative di particelle. Se è necessario un passaggio di pre-incubazione, il metodo diventa una determinazione qualitativa.

2-2-3. Tecnica di Filtrazione ed Epifluorescenza Diretta (TFED)

Principi di misura. Questa tecnica può essere considerata come il precursore della citometria in fase solida. I microrganismi, concentrati mediante filtrazione del campione, sono colorati mediante un reattivo fluorescente, in passato arancio di acridina e ora più comunemente 4',6-diammidino-2-fenilindolo (DAPI), che può essere rivelato mediante illuminazione epifluorescente. Le tecniche di colorazione vitale a fluorescenza utilizzate in citometria in fase solida (vedere 2-2-1.) sono trasportabili alla TFED e i coloranti fluorescenti redox come il 5-ciano-2,3-ditoliltetrazolio cloruro (CTC) possono essere utilizzati per mettere in evidenza le cellule aventi un'attività respiratoria. Accoppiato con la microscopia, il metodo permette una rivelazione rapida dei microrganismi con una sensibilità assoluta che dipende dal volume di prodotto filtrato e dal numero dei campi visivi esaminati. L'utilizzo di sistemi autofocalizzanti semi-automatizzati accoppiati all'analisi delle immagini ha sensibilmente perfezionato il metodo. Una variante di questo metodo utilizza una tecnica di campionamento che si avvale di un foglio adesivo per raccogliere le cellule dalle superfici, la colorazione viene poi effettuata sul foglio, il quale è osservato direttamente sotto un microscopio a epifluorescenza.

Aspetti critici. La distribuzione dei microrganismi sulla membrana influenza la robustezza del metodo. L'intensità della fluorescenza può essere influenzata dal processo di colorazione e dallo stato metabolico del microrganismo. Un breve periodo di coltura sulla superficie del filtro prima della colorazione permette la formazione di microcolonie. Queste si colorano rapidamente, possono essere facilmente contate e costituiscono una dimostrazione della vitalità. Nuovi sviluppi che utilizzano l'ibridazione *in situ* in fluorescenza (FISH), la quale consiste nell'interazione complementare di una sonda oligonucleotidica accoppiata con un marcatore di fluorescenza con una specifica sequenza di rRNA, aprono la via per una rivelazione selettiva.

Usi potenziali. L'impiego della tecnica di filtrazione ed epifluorescenza diretta è generalmente limitato ai fluidi di debole viscosità sebbene una diluizione o una filtrazione preliminare siano talvolta effettuate per dei prodotti viscosi. Il monitoraggio della carica microbiologica di prodotti farmaceutici acquosi è stata effettuata con successo.

2-3. ANALISI DEI COMPONENTI CELLULARI

2-3-1. Fenotipo

2-3-1-1. Metodi immunologici

Principi di misura. Le reazioni del tipo antigene-anticorpo possono essere utilizzate per rivelare unici determinanti cellulari di specifici organismi. Queste reazioni possono essere legate a fenomeni di agglutinazione, a punti finali colorimetrici o fluorimetrici, che permettono una rivelazione sia qualitativa che quantitativa. I dosaggi di immuno-adsorbimento con enzima coniugato (ELISA) rappresentano delle semplici metodologie in fase solida.

Aspetti critici. La rivelazione mediante metodi immunologici dipende dall'espressione univoca di determinanti specifici, ma non dimostra necessariamente la presenza di microrganismi vitali.

Usi potenziali. Rivelazione e identificazione di microrganismi specificati.

2-3-1-2. Profilo della composizione in acidi grassi

Principi di misura. La composizione in acidi grassi dei microrganismi è stabile, ben conservata e presenta un alto grado di omogeneità all'interno dei differenti gruppi tassonomici. L'isolato viene fatto crescere su un terreno standard, poi viene raccolto. Dopo saponificazione, metilazione ed estrazione degli acidi grassi, l'identificazione e la quantificazione degli esteri metilici risultanti sono effettuate mediante cromatografia in fase gassosa. La composizione in acidi grassi dell'isolato sconosciuto è confrontata con i profili degli isolati

noti che compaiono all'interno di una banca dati, per una ricerca di concordanza e un'eventuale identificazione.

Aspetti critici. L'utilizzo dei profili degli acidi grassi per l'identificazione microbica richiede un elevato grado di standardizzazione. È di fondamentale importanza, per l'analisi della composizione in acidi grassi delle cellule microbiche, che gli isolati siano coltivati utilizzando terreni a condizioni di incubazione standard. Allo stesso modo la cromatografia in fase gassosa deve essere effettuata in condizioni operative standard, con analisi frequente delle preparazioni di taratura e degli isolati noti.

Usi potenziali. L'identificazione o la caratterizzazione della flora nell'ambiente o in un prodotto, per mettere in evidenza tracce di contaminanti o per rivelare la presenza di microrganismi specificati.

2-3-1-3. Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR)

Principi di misura. La trasformata di Fourier dello spettro infrarosso di tutti i microrganismi fornisce un profilo stabile, identificabile e caratteristico di un gruppo tassonomico. L'analisi del profilo FTIR può essere effettuata mediante strumenti disponibili in commercio. L'isolato viene fatto crescere su un terreno standard, poi viene raccolto. Dopo il trasferimento della massa cellulare su un supporto, la registrazione dello spettro infrarosso e il calcolo della trasformata di Fourier, il profilo ottenuto è confrontato con quelli degli isolati noti che figurano all'interno di una banca dati, per un'eventuale ricerca di concordanza e l'identificazione.

Aspetti critici. L'uso dei profili FTIR per l'identificazione microbica richiede un elevato grado di standardizzazione. È di estrema importanza per i profili FTIR delle cellule microbiche che gli isolati siano stati fatti crescere utilizzando terreni a condizioni di incubazione standard. Tutte le cellule devono essere nel medesimo stadio del ciclo di crescita quando vengono analizzate. Un'attenzione particolare si deve avere nei confronti del processo di convalida.

Usi potenziali. L'identificazione o la caratterizzazione della flora nell'ambiente o in un prodotto, per mettere in evidenza tracce di contaminanti o per rivelare la presenza di microrganismi specificati.

2-3-1-4. Spettrometria di massa

Principi di misura. Il riscaldamento sotto vuoto degli isolati microbici libera dei prodotti di decomposizione gassosi che possono essere analizzati mediante spettrometria di massa e danno degli spettri di massa caratteristici. Similmente, le cellule microbiche intatte quando sono sottoposte ad una intensa ionizzazione in un

sistema di spettrometria di massa a ionizzazione per desorbimento laser con analisi a tempo di volo (MALDI TOF), forniscono un profilo distintivo delle specie cariche. Questi spettri possono essere confrontati con i profili noti come ausilio rapido per l'identificazione.

Aspetti critici. Gli isolati richiedono colture precedenti all'analisi.

Usi potenziali. Identificazione o caratterizzazione della flora nell'ambiente o in un prodotto, per mettere in evidenza tracce di contaminanti o per rivelare la presenza di microrganismi specificati.

2-3-1-5. Dosaggi biochimici basati su reazioni fisiologiche

Principi di misura. Questi dosaggi sono generalmente preceduti da una colorazione di Gram o da un altro saggio di differenziazione precoce che permette di scegliere un appropriato protocollo del saggio. Le sospensioni delle cellule microbiche sono analizzate con l'aiuto di kit di identificazione che utilizzano una proprietà biochimica particolare del microrganismo, come l'uso di specifiche fonti di carbonio. L'identificazione della coltura è effettuata mediante confronto del suo profilo di reazione biochimica con un database. Questi metodi possono essere eseguiti manualmente o mediante strumenti automatizzati.

Aspetti critici. E' necessario disporre di una colonia pura che non abbia più di 3 giorni. La messa in opera del sistema è semplice ma l'interpretazione dei risultati può essere soggettiva. In base al sistema utilizzato e ai microrganismi studiati, il conseguimento dei risultati può essere molto rapido.

Usi potenziali. Identificazione della flora nell'ambiente o in un prodotto, per mettere in evidenza tracce di contaminanti e rivelazione della presenza di microrganismi specificati.

2-3-2. Genotipo

2-3-2-1. Tecniche di amplificazione degli acidi nucleici

Principi generali di misura. Le tecniche di amplificazione si basano sulla reiterazione della reazione di polimerizzazione del DNA, che conduce ad un aumento esponenziale di uno specifico frammento dell'acido nucleico, secondo un processo detto reazione a catena della polimerasi (PCR). In questo processo ciclico termofilo, un frammento specifico di DNA è amplificato mediante l'utilizzo di inneschi oligonucleotidici (vedere il metodo generale 2.6.21). Anche l'RNA può essere amplificato mediante PCR dopo trascrizione in DNAC utilizzando una trascrittasi inversa. Questa tecnica è conosciuta come PCR a trascrittasi inversa (RT-PCR, reverse transcriptase PCR). Alternativamente, le specifiche tecniche di amplificazione basate sull'RNA, per esempio la

nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) o la *transcription-mediated amplification* (TMA), consentono di amplificare copie antisense multiple dell'RNA bersaglio. I frammenti di acido nucleico amplificati possono essere analizzati mediante diversi metodi: analisi della dimensione dei frammenti; analisi di sequenze specifiche; ri-amplificazione per mezzo di una seconda coppia di inneschi o rivelazione specifica mediante ibridazione con una sonda associata ad un marcatore fluorescente. In base alla scelta del metodo di analisi, la tecnica di amplificazione può essere qualitativa, semi-quantitativa o quantitativa. Per scopi di identificazione/caratterizzazione, si può ricorrere al sequenziamento di specifiche regioni del genoma (per esempio RNAr bersaglio 16S o 23S).

Aspetti critici generali. Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici presentano numerosi vantaggi rispetto ai metodi classici per la rivelazione dei microrganismi:

- i metodi sono altamente specifici, a condizione che gli inneschi scelti siano specifici per un particolare microrganismo o gruppo di microrganismi;
- le procedure sono rapide e permettono di superare il problema dei tempi di incubazione prolungati;
- i metodi sono altamente sensibili, permettendo idealmente la rivelazione e l'amplificazione di un singolo frammento di acido nucleico nella miscela di reazione.

Tuttavia ci sono numerose restrizioni pratiche al loro uso:

- la sensibilità dei metodi dipende fortemente dal successo con cui si è riusciti a concentrare i frammenti bersaglio all'interno del campione;
- la presenza di inibitori del processo enzimatico produce reazioni falsamente negative;
- il volume di partenza del campione analizzato è piccolo;
- le procedure sono inclini alla contaminazione crociata derivante da frammenti amplificati precedentemente con conseguenti risultati falsamente positivi.

In base all'obiettivo dell'analisi, è necessario optare per l'amplificazione del DNA o dell'RNA bersaglio. La scelta del bersaglio influisce sulla correlazione con la vitalità. L'uso del DNA come marcatore ha lo svantaggio che anche i microrganismi morti contengono DNA, mentre l'RNAm è rapidamente degradato all'interno dei batteri morti ed è considerato un miglior marcatore di vitalità.

Aspetti critici della RT-PCR. La PCR a trascrittasi inversa è caratterizzata dalla sintesi di DNAC utilizzando l'RNA come stampo. La trascrittasi inversa è

utilizzata per questo passaggio. Una parte specifica del DNAC è poi amplificata mediante PCR. L'efficacia della sintesi di DNAC varia in base alla qualità della procedura di isolamento dell'RNA. La RT-PCR può essere utilizzata per la rivelazione specifica di RNA se la contaminazione da DNA del campione di RNA è minima.

Aspetti critici delle tecniche di amplificazione dell'RNA. Questi metodi si sono dimostrati molto preziosi per la rivelazione specifica (quantitativa) dell'RNA. Tuttavia, potrebbe essere molto difficoltoso utilizzarli nella routine.

Aspetti critici della rivelazione (semi-)quantitativa (PCR in tempo reale). Le tecniche classiche di PCR si basano sulla rivelazione al punto finale. L'analisi dei frammenti è generalmente effettuata usando gel di agarosio e marcatori di dimensione specifici. Tuttavia, non c'è una correlazione tra la quantità di prodotto di amplificazione ottenuto alla fine della reazione e la quantità iniziale di molecola bersaglio. In compenso, la quantità di prodotto di amplificazione rivelata all'inizio della fase esponenziale della reazione può essere messa in relazione molto bene con la quantità iniziale di acido nucleico. Attualmente sono in via di sviluppo delle moderne tecniche di PCR in tempo reale, che si basano sulla misura di questa fase esponenziale della reazione.

Queste tecniche generano dati di amplificazione dai quali si può dedurre la quantità iniziale di molecola bersaglio. Una specifica sonda marcata rivela in tempo reale il prodotto di amplificazione formato, permettendo la visualizzazione diretta della parte esponenziale della reazione di PCR. Una quantificazione della molecola bersaglio è dunque possibile per confronto con i tracciati di amplificazione ottenuti con una serie di diluizioni di riferimento. Sul mercato sono disponibili sistemi automatizzati di PCR in tempo reale. Un ulteriore vantaggio è rappresentato dalla possibilità di minimizzare la contaminazione crociata, dal momento che i prodotti di amplificazione sono analizzati mediante scansione laser mentre i tubi rimangono chiusi. Tuttavia, la generazione di preparazioni di riferimento è un'operazione difficile.

Aspetti critici dell'amplificazione di geni che codificano per l'RNAr 16S o 23S. Grande applicazione trova la PCR nell'amplificazione e nella conseguente analisi di sequenze di specifiche parti dei geni che codificano per l'RNAr 16S o 23S. L'analisi di queste specifiche sequenze di DNA consente in molti casi l'identificazione di un microrganismo a livello di specie. La selezione di appropriati inneschi (primers) universali, o anche di coppie di inneschi specie-specifici, dalle banche di dati internazionali permette un'elevata specificità

nell'amplificazione dei frammenti. La classificazione sistematica moderna si basa sull'analisi comparativa delle sequenze.

Usi potenziali. Le tecniche di amplificazione permettono un'alta specificità e per questo sono adatte per l'identificazione. Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici consentono di rivelare microrganismi specificati o alcuni gruppi di essi, come i micoplasmi. Per la determinazione del numero è necessario fare ricorso alla PCR quantitativa in tempo reale.

2-3-2-2. Impronta genetica (*Genetic fingerprinting*)

Principi di misura. Questa tecnica caratterizza e identifica i microrganismi utilizzando frammenti di restrizione di acidi nucleici, a partire dai genomi batterici o fungini. Il DNA è estratto dal lisato di una colonia microbica pura e ridotto in frammenti dagli enzimi di restrizione. I frammenti di DNA sono separati in base alle dimensioni mediante elettroforesi, visualizzati e il loro profilo è confrontato con quelli conosciuti degli isolati microbici. L'impronta genetica costituisce un marcatore stabile che permette una discriminazione assoluta della specie, o anche una caratterizzazione al di sotto del livello di specie. La "ribotipizzazione" è un esempio tipico di questa tecnica. Ci sono anche dei metodi di rilevamento dell'impronta genetica basati sulla PCR con degli inneschi che si legano a siti multipli all'interno del genoma microbico e che creano unità di amplificazione (amplicons) con una distribuzione caratteristica della dimensione.

Aspetti critici. E' necessario disporre di una colonia pura, ma non è necessario un passaggio di coltura preliminare. Le condizioni di crescita (temperatura, tipo di terreno) non influiscono sui risultati dell'analisi. Per l'identificazione dei batteri sono disponibili sul mercato sistemi semi-automatizzati.

Usi potenziali. L'impronta genetica è più utile nella discriminazione dei ceppi (caratterizzazione al di sotto del livello di specie) che nell'identificazione delle specie.

3. REQUISITI GENERALI DI CONVALIDA

Lo scopo di questa sezione è quello di fornire una guida nella convalida dei metodi alternativi rispetto ai metodi microbiologici di farmacopea. Per il recupero e l'identificazione dei microrganismi, i laboratori di analisi microbiologica qualche volta utilizzano dei metodi alternativi a quelli descritti nei capitoli generali per tutta una serie di ragioni che possono essere di natura economica, di velocità d'analisi e di convenienza. E' richiesta la convalida di questi metodi. Alcune indicazioni sulla convalida sono fornite nella sezione 1.1 delle Prescrizioni generali in relazione all'utilizzo dei metodi alternativi.

La convalida dei metodi microbiologici alternativi deve tener conto dell'ampio grado di variabilità associato ai metodi convenzionali. Durante l'esecuzione di un'analisi microbiologica mediante una convenzionale conta su piastra, per esempio, frequentemente ci si trova dinanzi ad un intervallo dei risultati che è più ampio di quelli comunemente usati nei saggi chimici.

Quando l'impiego di un'apparecchiatura specifica è cruciale per l'applicazione del metodo alternativo, questa apparecchiatura, inclusi hardware e software del computer, deve essere totalmente qualificata nel modo seguente:

- qualificazione del progetto (design qualification, DQ) per fornire un'evidenza documentata che il progetto dell'apparecchiatura è adatto per la corretta esecuzione del metodo; deve essere fornita dal fabbricante;
- qualificazione dell'installazione (installation qualification, IQ) per fornire un'evidenza documentata che l'apparecchiatura è stata fornita e installata in accordo con le sue specificazioni;
- qualificazione delle procedure operative (operational qualification, OQ) per fornire un'evidenza documentata che l'apparecchiatura installata opera entro i limiti pre-determinati quando è utilizzata in accordo con le sue procedure operative;
- qualificazione delle prestazioni (performance qualification, PQ) per fornire un'evidenza documentata che l'apparecchiatura, installata e utilizzata conformemente alle procedure operative, opera in accordo con i criteri predefiniti e in tal modo consente di ottenere risultati corretti per il metodo. Questa qualificazione è effettuata tipicamente con un sistema modello (che utilizza i microrganismi di riferimento) in modo da assicurare che le condizioni usate dal laboratorio utilizzatore fanno sì che siano soddisfatti, all'interno del laboratorio, i criteri descritti dal fornitore del metodo.

Alcuni metodi alternativi dipendono dall'uso di banche di dati. È necessario, per la convalida, prendere in considerazione il grado di completezza della banca di dati rispetto alla gamma dei microrganismi considerati.

La validità di un metodo nuovo o modificato deve essere dimostrata mediante uno studio comparativo tra il metodo ufficiale e il metodo alternativo. Le caratteristiche definite in questo capitolo devono essere utilizzate per stabilire questa comparazione.

3-1. TIPI DI SAGGI MICROBIOLOGICI

È critico per il lavoro di convalida identificare la porzione del saggio riguardante il metodo alternativo. Per esempio, ci sono diversi metodi che consentono di rivelare la presenza di cellule vitali. Questi metodi possono

essere applicati in numerosi saggi (per esempio carica microbica, sterilità, ecc.) ma di fatto, non possono sostituire gli aspetti critici dell'intero saggio. Per esempio, un saggio di sterilità mediante filtrazione su membrana può essere effettuato secondo la procedura della farmacopea fino al momento in cui il filtro trattato e il terreno di crescita sono riuniti e dopo la presenza di cellule vitali può essere dimostrata mediante l'uso di uno dei metodi disponibili. La convalida di questa applicazione, quindi, richiederebbe la convalida del sistema di recupero impiegato piuttosto che dell'intero saggio.

Criteri generali. La convalida di un metodo microbiologico è il processo attraverso il quale si stabilisce sperimentalmente che le caratteristiche di applicabilità del metodo sono conformi ai requisiti dell'applicazione considerata. Poiché i saggi microbiologici hanno tre applicazioni di base, sono richiesti tre diversi tipi di criteri di convalida, che sono descritti di seguito.

3-2. CONVALIDA DEI SAGGI QUALITATIVI ALTERNATIVI PER LA PRESENZA O L'ASSENZA DI MICRORGANISMI

3-2-1. Accuratezza e precisione

Un metodo diretto per dimostrare l'equivalenza tra due metodi qualitativi sarebbe quello di eseguirli fianco a fianco e di determinare il grado di equivalenza tra il metodo che si sta valutando e il metodo della farmacopea. Un esempio di quanto detto potrebbe essere fornito dal saggio di sterilità, dove questo approccio si tradurrebbe in un confronto tra l'entità dei risultati positivi e dei risultati negativi ottenuti rispettivamente con il metodo alternativo e con quello di farmacopea a partire da campioni identici. Tuttavia, in un caso come quello del saggio di sterilità, per ridurre al minimo gli errori sarebbe necessario effettuare migliaia di saggi comparativi per stabilire l'equivalenza e ciò sarebbe problematico.

Un metodo più fattibile per valutare la precisione di un metodo qualitativo alternativo rispetto a un metodo di farmacopea può essere quello di considerare il grado di accordo tra i due metodi quando le procedure si applicano in modo ripetuto a lotti differenti dello stesso prodotto. L'accuratezza e la precisione del metodo alternativo possono essere espresse in termini di proporzione relativa tra i falsi positivi e i falsi negativi ottenuti con il metodo nuovo e il metodo di farmacopea, utilizzando un inoculo standardizzato a bassa concentrazione.

Il grado di comparsa di falsi negativi nel campione con i due metodi può essere stimato con l'ausilio di microrganismi di riferimento presenti a bassa concentrazione. Questo tipo di saggio è simile al saggio standard di batteriostasi/fungistasi; tuttavia, il numero dei microrga-

nismi inoculati deve essere molto basso, per esempio circa 5 UFC per unità, per garantire una frequenza di insuccesso sufficientemente elevata da permettere il confronto tra i due metodi. Il metodo alternativo deve garantire una frequenza di recupero almeno così elevata quanto il metodo della farmacopea.

3-2-2. Specificità

La specificità di un metodo alternativo qualitativo è la sua capacità di rivelare la gamma richiesta dei microrganismi potenzialmente presenti nel campione in esame. Questo aspetto è opportunamente coperto dal saggio di fertilità (promozione della crescita) dei terreni, per i metodi qualitativi che utilizzano la crescita allo scopo di dimostrare la presenza o l'assenza dei microrganismi. Per quei metodi che non utilizzano la crescita come un indicatore della presenza microbica, la specificità garantisce che elementi estranei presenti nel sistema non interferiscono con il saggio. Quando rilevante per lo scopo del saggio, utilizzare delle miscele di microrganismi durante la convalida.

3-2-3. Limite di rivelazione

Il limite di rivelazione di un metodo alternativo qualitativo è il numero più piccolo di microrganismi in un campione che possono essere rivelati nelle condizioni sperimentali descritte. Un saggio limite microbiologico determina la presenza o l'assenza di microrganismi e il limite di rivelazione si riferisce al numero di microrganismi presenti nel campione iniziale, prima di ogni passaggio di diluizione o di incubazione e non al numero di microrganismi presenti al momento del saggio.

I due metodi (alternativo e di farmacopea) devono essere valutati utilizzando un inoculo contenente un numero basso di microrganismi di riferimento, per esempio circa 5 UFC per unità, procedendo poi alla misura del recupero. La concentrazione dell'inoculo deve essere aggiustata finché almeno il 50 per cento dei campioni mostri una crescita nel metodo di farmacopea. E' necessario ripetere questa determinazione molte volte, dal momento che il limite di rivelazione di un saggio si determina a partire da un numero appropriato di repliche (per esempio almeno 5). L'abilità dei due metodi nel rivelare la presenza di singoli microrganismi può essere dimostrata utilizzando il saggio di χ^2 .

3-2-4. Robustezza

La robustezza di un metodo alternativo qualitativo è una misura della sua capacità di non essere influenzato dalle variazioni piccole ma deliberate dei parametri operativi, e fornisce un'indicazione dell'affidabilità del metodo in condizioni di saggio normali ma variabili, come differenti analisti, strumenti, lotti di reattivi e laboratori. La robustezza può essere definita come la resistenza intrinseca all'influenza esercitata dalle varia-

bili operative e ambientali sui risultati del metodo microbiologico. E' il fornitore del metodo il più indicato per determinare la robustezza, ma se dei parametri critici sono modificati dall'utilizzatore, i loro effetti sulla robustezza devono essere valutati. La robustezza di un metodo qualitativo è giudicata dalla sua abilità nel rivelare i microrganismi di riferimento in presenza di variazioni deliberate dei parametri operativi.

3-3. CONVALIDA DEI SAGGI QUANTITATIVI ALTERNATIVI PER LA CONTA DEI MICRORGANISMI

3-3-1. Accuratezza

L'accuratezza di un metodo alternativo quantitativo è la prossimità dei risultati del saggio ottenuti con il metodo alternativo al valore ottenuto con il metodo di farmacopea. L'accuratezza deve essere dimostrata sull'intervallo di misura reale del saggio. È generalmente espressa come la percentuale di recupero dei microrganismi ottenuta con il metodo.

L'accuratezza può essere mostrata preparando una sospensione di microrganismi al limite superiore dell'intervallo di misura e procedendo poi con delle diluizioni in serie fino al limite inferiore dell'intervallo di misura. Per esempio, se il metodo alternativo è destinato a sostituire il tradizionale metodo di conta su piastra dei microrganismi vitali, un intervallo di misura ragionevole può essere di 10^0 - 10^6 UFC per ml. Se si tratta invece di sostituire il metodo NPP, può essere utilizzato un intervallo molto più stretto. Per ogni microrganismo di riferimento è necessario analizzare almeno 5 sospensioni all'interno dell'intervallo di misura. Se il metodo alternativo è destinato a sostituire un metodo convenzionale, esso deve fornire una stima del numero di microrganismi vitali che non sia inferiore al 70 per cento della stima ottenuta con il metodo della farmacopea.

Il protocollo utilizzato per verificare la linearità del metodo (vedere 3-3-5.) può essere usato anche per verificare l'accuratezza: le sospensioni dei microrganismi preparate per il metodo alternativo sono contate nello stesso tempo con il metodo di farmacopea. L'accuratezza è dimostrata se i saggi di conformità mostrano che la pendenza della retta di regressione non differisce significativamente da 1 e se l'ordinata all'origine non è significativamente differente da 0.

3-3-2. Precisione

La precisione di un metodo alternativo quantitativo è il grado di accordo tra i risultati dei singoli saggi quando la procedura è applicata ripetutamente a campioni multipli di sospensioni omogenee di microrganismi nelle

condizioni prescritte. La precisione è generalmente espressa in termini di varianza, di deviazione standard o di coefficiente di variazione di una serie di misure. La procedura minima consiste nel contare più volte una sospensione di microrganismi con una concentrazione che in genere si colloca al centro dell'intervallo di misura. Il numero delle ripetizioni è scelto in modo tale che l'intero saggio possa essere effettuato nel corso della stessa sessione di lavoro, ovvero nelle stesse condizioni operative e senza cambiamenti nella sospensione dei microrganismi. Le altre sessioni di lavoro sono condotte in condizioni di massima variabilità (differenti reattivi, differenti operatori, giorni differenti, ecc.). Calcolare la varianza dei risultati osservati in ciascuna sessione di lavoro ("gruppi"). Se le varianze sono omogenee, può essere calcolata la varianza della ripetibilità. Calcolare la varianza dei risultati inter-gruppo. La varianza della precisione intermedia è la somma della varianza della ripetibilità e della varianza inter-gruppo. Poi calcolare i coefficienti di variazione. Generalmente, è accettabile un coefficiente di variazione dell'ordine del 10-15 per cento. Indipendentemente dai risultati specifici ottenuti, il metodo alternativo non deve dare un coefficiente di variazione superiore a quello del metodo della farmacopea.

3-3-3. Specificità

La specificità di un metodo alternativo quantitativo è dimostrata utilizzando una gamma di microrganismi appropriati. Se giustificato dallo scopo del saggio, durante la convalida sono usate delle miscele di microrganismi.

3-3-4. Limite di quantificazione

Il limite di quantificazione di un metodo alternativo quantitativo è il più piccolo numero di microrganismi che è possibile contare con esattezza. Poiché è impossibile ottenere un campione affidabile contenente un numero noto di microrganismi, è essenziale che il limite di quantificazione sia determinato a partire da un numero di ripetizioni, per esempio, pari almeno a 5. Possono essere usati anche i risultati degli studi di linearità e accuratezza. La più bassa concentrazione all'interno dell'intervallo della linearità è considerata, quindi, come il limite di quantificazione del metodo. Questo valore non deve essere superiore al limite di quantificazione del metodo di farmacopea.

3-3-5. Linearità

La linearità di un metodo alternativo quantitativo è la sua capacità di produrre, all'interno di un dato intervallo, risultati proporzionali alla concentrazione dei microrganismi presenti nel campione. La linearità deve essere determinata su un intervallo di misura corrispondente all'obiettivo del metodo alternativo.

A tale scopo si possono selezionare concentrazioni differenti di ciascun microrganismo di riferimento ed effettuare numerose ripetizioni per ogni concentrazione. Il numero delle ripetizioni è scelto in modo tale che l'intero saggio possa essere effettuato durante la stessa sessione di lavoro. Altre due sessioni di lavoro sono successivamente portate a termine in condizioni di massima variabilità (differenti reattivi, operatori diversi, giorni differenti, ecc.). Dopo verifica dell'omogeneità delle varianze dei risultati ottenuti per ogni concentrazione, si calcola la retta di regressione. La linearità è dimostrata se la pendenza stimata è significativa e se il saggio per la deviazione dalla linearità non è significativo.

3-3-6. Intervallo di misura

L'intervallo di misura di un metodo alternativo quantitativo è l'intervallo compreso tra il livello più alto e quello più basso di microrganismi che possono essere determinati con precisione, accuratezza e linearità applicando il metodo descritto. L'intervallo è determinato a partire da studi di precisione, accuratezza e linearità.

3-3-7. Robustezza

La robustezza di un metodo alternativo quantitativo è una misura della sua capacità di non essere influenzato dalle piccole ma deliberate variazioni dei parametri del metodo e fornisce un'indicazione della sua affidabilità nelle condizioni di saggio normali, ma variabili, come differenti analisti, strumenti, lotti di reattivi e laboratori. La robustezza può essere definita come la resistenza intrinseca alle influenze esercitate dalle variabili operative e ambientali sui risultati del metodo microbiologico. È colui che sviluppa il metodo il più indicato per determinare la robustezza, ma se l'utilizzatore apporta delle modifiche ad alcuni parametri critici deve essere determinato il loro effetto sulla robustezza. La robustezza di un metodo quantitativo è giudicata dalla sua abilità nel contare con rilevanza statistica i microrganismi di riferimento quando si fanno variare deliberatamente i parametri operativi.

3-4. CONVALIDA DEI SAGGI DI IDENTIFICAZIONE ALTERNATIVI

Sono molte le osservazioni che mettono in evidenza come i diversi metodi differiscano circa la loro abilità nell'identificare i microrganismi nei prodotti di farmacopea. Si deve accettare l'idea che un metodo di sistematica deve avere una consistenza interna, ma possa differire dagli altri metodi per quanto riguarda l'identificazione degli isolati. In altre parole, l'identificazione di un isolato basata sull'attività biochimica può portare ad una conclusione, l'identificazione mediante analisi degli acidi grassi a un'altra, l'identificazione mediante

analisi del DNA può condurre ad una terza conclusione e altri metodi a conclusioni ancora differenti. Le identificazioni microbiologiche secondo un sistema particolare derivano direttamente dall'esperienza acquisita con quel sistema e possono dunque differire sensibilmente dalle identificazioni condotte secondo un altro sistema. E' di fondamentale importanza che ciascun sistema permetta un'identificazione coerente dei microrganismi isolati dai prodotti di farmacopea.

3-4-1. Accuratezza

L'accuratezza di un metodo di identificazione alternativo è la sua capacità di identificare il microrganismo studiato al livello tassonomico richiesto e di differenziarlo dagli altri microrganismi presenti nel campione. Deve essere dimostrata con una serie di microrganismi di riferimento o di microrganismi ottenuti da campioni tipo precedentemente identificati per mezzo di un altro metodo.

3-4-2. Precisione

La precisione di un metodo di identificazione alternativo è il grado di accordo tra i singoli risultati del saggio quando la procedura viene applicata ripetutamente a campioni multipli di sospensioni di microrganismi di riferimento che coprono l'intervallo di misura del saggio.

3-4-3. Robustezza

La robustezza di un metodo di identificazione alternativo è una misura della sua capacità di non essere influenzato dalle piccole ma deliberate variazioni dei parametri operativi. Fornisce un'indicazione dell'affidabilità del metodo nelle condizioni di saggio normali, ma variabili come differenti analisti, strumenti, lotti di reattivi e laboratori. La robustezza può essere definita come la resistenza intrinseca all'influenza esercitata dalle variabili operative e ambientali sui risultati del metodo microbiologico. È il fornitore del metodo il più idoneo a determinare la robustezza, ma se l'utilizzatore apporta delle modifiche ad alcuni parametri critici deve essere valutato il loro effetto sulla robustezza. La robustezza di un metodo di identificazione è giudicata dalla sua abilità nell'identificare in modo consistente i microrganismi di riferimento quando si fanno variare deliberatamente i parametri operativi.

4. REQUISITI SPECIFICI DI CONVALIDA

4-1. CONTESTO

La convalida è definita in diversi contesti con alcune differenze, ma una definizione consensuale è che essa consiste nello stabilire la prova documentata che un processo permetterà di realizzare, in maniera riproduci-

bile, l'obiettivo al quale è destinato. Conseguentemente per effettuare una corretta convalida di un nuovo metodo è critico comprendere e definire qual è l'obiettivo che la procedura deve raggiungere.

Per l'applicazione dei metodi microbiologici convenzionali o alternativi, si devono considerare due livelli di convalida. La convalida primaria di un metodo è generalmente realizzata dall'ideatore del nuovo metodo mentre la convalida per l'uso effettivo previsto, che consiste nel verificare l'idoneità o l'applicabilità del metodo in una data situazione, deve essere intesa come responsabilità dell'utilizzatore. Prima della convalida per l'uso effettivo previsto, una qualificazione delle prestazioni è effettuata dall'utilizzatore come descritto nella sezione 3. *Requisiti generali di convalida.*

I metodi microbiologici utilizzano tipicamente alcune caratteristiche specifiche dei microrganismi come indicatori o principi di rivelazione per questioni più generali. Le informazioni necessarie sono la presenza, il numero, la vitalità, la resistenza o l'idoneità dei microrganismi in un dato prodotto o in un ambiente.

Un dato metodo darà generalmente una risposta indiretta e condizionata alle questioni poste. Per esempio, il numero totale e la vitalità dei microrganismi sono indicati dal numero di microrganismi capaci di riprodursi in un insieme di condizioni di preparazione del campione, di coltura e di incubazione. La riproduzione in microbiologia classica è dunque presa come l'indicatore generale di vitalità. Esistono anche altri parametri che possono essere utilizzati come un'indicazione di vitalità.

Il livello di ATP o l'accumulo o il metabolismo dei substrati nelle cellule vive possono essere utilizzati ugualmente come un'indicazione di vitalità. I risultati ottenuti a partire da differenti indicatori di vitalità non saranno sempre identici. Dei microrganismi possono non essere capaci di riprodursi in un dato terreno ma possono essere capaci di accumulare e metabolizzare un substrato. Alcuni microrganismi possono non essere capaci, ad un dato stadio di danneggiamento, di accumulare un substrato ma possono conservare la capacità di recuperare la vitalità e di riprodursi.

Un altro esempio è dato dai diversi metodi utilizzati per l'identificazione dei microrganismi. La caratterizzazione del profilo metabolico dei microrganismi è spesso utilizzata per l'identificazione delle specie, mentre un altro metodo consiste nel confrontare le sequenze del DNA. Inoltre, la risposta ottenuta può non essere completamente coincidente per i differenti metodi di identificazione e mentre una risposta può essere appropriata per la costruzione di un corretto albero di correlazione

filogenetica un'altra risposta può essere più utile nel contesto delle patogenicità o di altre proprietà del microrganismo differenziato.

4-1-1. Convalida primaria

Per caratterizzare un metodo microbiologico specifico, il principio di rivelazione deve essere descritto chiaramente dall'ideatore. Il metodo deve essere descritto dettagliatamente rispetto alle condizioni richieste per l'applicazione, i materiali e l'apparecchiatura necessari e il risultato atteso. Il principio di applicazione deve essere descritto in una pubblicazione scientifica riconosciuta. Il principio di rivelazione deve essere caratterizzato in un sistema modello e/o con un insieme di microrganismi di riferimento almeno per gli aspetti seguenti:

- trattamento preliminare del campione o dei microrganismi;
- tipo di risposta;
- specificità della risposta;
- limite di rivelazione;
- intervallo;
- linearità della risposta;
- accuratezza e precisione della risposta;
- robustezza del metodo in un sistema modello;
- limiti di applicabilità.

Una volta che il metodo è stato caratterizzato in questo modo dall'ideatore, il principio di rivelazione necessario non deve essere verificato necessariamente da ciascun utilizzatore.

4-1-2. Convalida di un metodo microbiologico alternativo

4-1-2-1. Analisi rischio-beneficio

Per la convalida di metodi microbiologici alternativi specifici è cruciale che lo scopo della procedura sia descritto precisamente. Sulla base di questo obiettivo devono essere definiti il tipo e il grado di informazione necessaria. L'informazione ottenuta con il metodo convenzionale e il metodo alternativo e le limitazioni di tali metodi devono essere considerate e confrontate in un'analisi rischio-beneficio.

L'applicazione di un metodo alternativo può essere giustificata se l'informazione ottenuta porta ad una risposta, scientificamente fondata, alle questioni poste nella procedura e se le limitazioni del metodo non sono più restrittive delle limitazioni del metodo convenzionale.

4-1-2-2. Convalida per l'uso effettivo previsto

Il metodo alternativo deve essere applicato nell'ambito della procedura in uso e con i campioni da analizzare sotto la responsabilità dell'utilizzatore e deve essere dimostrato che fornisce risultati confrontabili come

caratterizzati, in un sistema modello, dal fornitore. Le domande specifiche da porre in questo contesto sono, per esempio, se del caso:

- la compatibilità della risposta con le modalità di preparazione dei campioni per il saggio;
- i limiti e l'intervallo di rivelazione del metodo in relazione alle dimensioni del campione e la disponibilità del campione;
- la specificità della risposta in relazione all'influenza dei componenti del prodotto;
- la linearità della risposta in relazione a tutti i tipi di campioni da analizzare;
- l'accuratezza e la precisione della risposta in relazione a tutti i tipi di campione da analizzare;
- la robustezza del metodo in relazione a tutti i tipi di campioni da analizzare.

Sarà necessario definire i criteri di accettazione applicabili all'utilizzazione nella routine in funzione dell'applicazione e dei dati di convalida.

4-2. DETERMINAZIONE DEL NUMERO DEI MICRORGANISMI MEDIANTE BIOLUMINESCENZA

4-2-1. Analisi rischio-beneficio

Come attesta l'evidenza scientifica approfondita e gli anni di utilizzazione, il metodo che utilizza l'ATP come marcatore di vitalità è equivalente ai metodi classici di conta su piastra per quanto riguarda la gamma di microrganismi che permette di rivelare. Poiché questo metodo dipende dalla crescita, il miglioramento di questo metodo rispetto ai metodi su piastra è rappresentato dalla rapidità nell'ottenere un risultato (dai 5 giorni della coltura su piastra alle 24 h per la bioluminescenza). È possibile identificare i microrganismi rivelati mediante bioluminescenza a partire dal terreno di incubazione ma si deve ricordare che, in una coltura mista, alcuni microrganismi possono soppiantare gli altri nel corso dell'incubazione. Questo metodo consente di effettuare la valutazione del campione entro 24 h per i prodotti filtrabili e non filtrabili (acqua, controllo in corso di processo, prelievi ambientali, materie prime solide e liquide, prodotti finiti solidi e liquidi, ecc.) e per un grande numero di campioni quando la fase di rivelazione è automatizzata.

4-2-2. Convalida per l'uso previsto effettivo

Il metodo si basa sulla rivelazione dell'ATP prodotta per i microrganismi vitali. Una qualificazione delle prestazioni è effettuata con i microrganismi di riferimento per assicurare che le condizioni operative applicate dai laboratori di utilizzazione possono soddisfare ai criteri descritti dall'ideatore per la precisione, l'accuratezza e la linearità (metodo quantitativo) o il limite di rivela-

zione (metodo qualitativo e semi-quantitativo) nell'intervallo di misura richiesto per l'uso previsto. Dopo questa fase, la convalida si persegue in 3 fasi:

- *fase 1*: fertilità del terreno di coltura in presenza del prodotto (se si effettua una fase di incubazione);
- *fase 2*: ricerca delle interferenze che possono aumentare o inibire la produzione di ATP (aggiungendo una soluzione standard di ATP al prodotto in esame);
- *fase 3*: saggio comparativo rispetto al metodo di farmacopea.

Un esempio dettagliato di convalida di un metodo di bioluminescenza è descritto alla fine di questo capitolo.

4-3. DETERMINAZIONE DEL NUMERO DEI MICRORGANISMI MEDIANTE CITOMETRIA (A FLUSSO E IN FASE SOLIDA)

4-3-1. Analisi rischio-beneficio

Come attesta l'evidenza scientifica approfondita, questo metodo che utilizza un fluoroforo come marcatore di vitalità permette di rivelare e/o contare una gamma più ampia di microrganismi rispetto ai metodi di conta su piastra. La citometria permette infatti di rivelare tutti i microrganismi vitali compresi alcuni che non possono essere rivelati mediante i metodi basati sulla crescita. Anche se rapido, il recupero dei microrganismi dopo l'analisi è limitato. Il proseguimento dell'analisi di campioni per l'identificazione richiederebbe l'utilizzo di altri coloranti fluorescenti o di un metodo alternativo. Allo stato attuale non è possibile utilizzare questo metodo per l'identificazione di routine dei microrganismi sebbene la loro morfologia di base sia rapidamente discernibile sotto microscopio fluorescente in citometria a fase solida. Questo metodo fornisce una rapida valutazione dei campioni e permette un approccio proattivo alla fabbricazione farmaceutica, alla facilitazione della costruzione della qualità nelle operazioni farmaceutiche. Questo metodo non dipende dalla crescita e quindi possono essere rivelati tutti i microrganismi metabolicamente attivi. Tuttavia, attualmente, il limite di rivelazione della citometria a flusso è tale che non può essere utilizzata per la determinazione del numero mediante l'esame diretto per la maggior parte dei campioni farmaceutici. Se è necessaria un'incubazione preliminare, la valutazione diventa semi-quantitativa (saggio limite).

4-3-2. Convalida per l'uso effettivo previsto

Il metodo si basa sulla rivelazione di un segnale fluorescente emesso dai microrganismi marcati.

Una qualificazione delle prestazioni è effettuata per assicurare che gli strumenti funzionino entro i loro parametri operazionali definiti. Questo implica l'uso di

standard fluorescenti dell'intensità prescritta e le colture contenenti un tipo e un numero noto di microrganismi. Questi saggi permettono di mettere alla prova il sistema di rivelazione quantitativa. I reattivi e i consumabili (controlli negativi) devono essere utilizzati anche per assicurare che il protocollo del saggio di routine è applicabile e che la qualità dei materiali utilizzati nel saggio non contribuisce al risultato finale. Le colture pure di microrganismi di riferimento sono utilizzate per mettere alla prova il sistema di rivelazione e per confrontare i risultati del saggio con quelli ottenuti mediante conta su piastra. Alcuni replicati multipli (almeno 5) delle colture incubate per una notte, diluite entro un intervallo di concentrazione (per esempio 100 per cento, 75 per cento, 50 per cento, 25 per cento, 10 per cento) devono essere utilizzati per valutare la linearità, l'accuratezza, la precisione, l'intervallo di misura, la specificità, il limite di quantificazione (metodo quantitativo) e il limite di rivelazione (citometria a flusso con incubazione preliminare). Poiché la citometria ha un'alta sensibilità (la citometria in fase solida permette la rivelazione delle singole cellule e la citometria a flusso possiede una sensibilità dell'ordine di 10-50 cellule per millilitro) e la rivelazione non è basata sulla crescita, la linearità della strumentazione può essere verificata mediante confronto dei risultati effettivi con il valore atteso.

Dopo questa fase, la convalida procede in due fasi: convalida rispetto al prodotto in esame e saggi comparativi. I risultati di ciascuna fase devono essere valutati rispetto ai criteri di accettazione pre-determinati usando controlli positivi e negativi:

- *fase 1*: i singoli materiali da valutare mediante citometria devono essere "arricchiti" con un livello definito di microrganismo per assicurare che il processo di preparazione del campione e i campioni stessi non abbiano un impatto sulle prestazioni del campione; in particolare la matrice del campione non deve influenzare la rivelazione (per es. contenuto di cromofori endogeni, particelle acetofluorescenti) e, nel caso della citometria a flusso, la dimensione/diluizione del campione e la velocità di flusso devono essere determinate per ottenere una prestazione ottimale;
- *fase 2*: dei saggi devono essere effettuati per confrontare i risultati ottenuti mediante citometria e il metodo di farmacopea; il numero di campioni e il periodo di saggio devono essere definiti in un protocollo di comparabilità; il numero di campioni richiesto varierà ma deve essere rappresentativo del processo di valutazione del prodotto (per es. tempo/numero), e deve permettere una valutazione statistica. Tutti i campioni devono essere preparati

in accordo alle procedure definite e valutati in rapporto alla convalida selezionata e ai criteri di accettazione, in maniera analoga a quelli utilizzati per la valutazione della coltura pura.

4-4. PROFILI DELLA COMPOSIZIONE IN ACIDI GRASSI PER L'IDENTIFICAZIONE

4-4-1. Analisi rischio-beneficio

L'identificazione mediante il profilo degli acidi grassi può essere più precisa dei metodi di identificazione basati sui profili metabolici nei convenzionali metodi di coltura microbiologici. Le basi di dati disponibili sono più estese rispetto ai metodi di coltura convenzionali. Un'incubazione preliminare è necessaria, ma l'estrazione e l'identificazione sono più rapide dei metodi biochimici e conseguentemente il risultato è ottenuto in tempi più brevi. Altri metodi moderni, come l'analisi della sequenza di RNAr 16S o l'impronta genetica hanno un ampio dominio di differenziazione e danno un risultato in maniera veloce come questo metodo.

La separazione di microrganismi strettamente correlati (per es. *E. coli* e *Salmonella* spp.) mediante l'analisi dei profili di composizione in acidi grassi può essere difficile. Quando l'identificazione di microrganismi strettamente correlati è particolarmente importante, altri sistemi possono dare risultati più precisi. Per una data applicazione è importante specificare quali tipi di microrganismi sono più importanti da identificare. Se è cruciale caratterizzare correttamente le specie dell'isolato dal punto di vista filogenetico, i metodi di identificazione basati sulla sequenza del DNA daranno risultati più affidabili.

Un'altra limitazione dell'identificazione mediante il profilo degli acidi grassi è anche rappresentata dalla necessità di coltivare i microrganismi in terreni di coltura standardizzati in condizioni standardizzate di temperatura e di durata dell'incubazione. I microrganismi che non possono essere coltivati in questi terreni di coltura non possono essere identificati.

4-4-2. Convalida per l'uso effettivo previsto

Si deve dimostrare che il metodo fornisce risultati costanti, usando un intervallo di microrganismi di riferimento e almeno 3 ripetizioni della determinazione in ciascun caso.

Si deve effettuare l'identificazione di un numero significativo di isolati derivati da ciascun tipo, che devono essere analizzati dall'utilizzatore, almeno 3 volte ciascuno.

I risultati ottenuti in ciascun caso devono essere coerenti e in accordo con i risultati ottenuti con i metodi di identificazione alternativi. Quando in un altro sistema di identificazione si ottiene un risultato di iden-

tificazione differente, si deve indagare la ragione della differenza. Se esiste una spiegazione scientificamente plausibile per il riconoscimento di specie differenti, l'esistenza di una differenza tra i sistemi di identificazione può essere accettabile. In questo caso, si deve assicurare che il riconoscimento della specie identificata sia robusto. Si deve anche verificare che il sistema non conduce al raggruppamento sotto una "specie" unica di isolati mediocramente riconosciuti che simula dunque l'isolamento ripetuto di una singola specie.

4-5. TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE DEGLI ACIDI NUCLEICI

4-5-1. Analisi rischio-beneficio

Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici sono ampiamente utilizzate per uso diagnostico per la loro precisione e la loro rapidità a costi relativamente bassi (per l'analisi ma non per gli strumenti) se confrontati con i metodi tradizionali. A condizione che siano state effettuate le specifiche convalide, quando le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici sono appropriatamente utilizzate, in alcuni campi esse possono offrire vantaggi rispetto ai metodi classici; d'altra parte i metodi classici sono generalmente più facilmente standardizzabili, necessitano di un livello più basso di competenza tecnica e possono avere costi più bassi. Anche quando le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici non sono più difficili da effettuare rispetto ai metodi tradizionali, l'interpretazione dei risultati generalmente necessita di un alto grado di competenza scientifica.

Quando utilizzati per l'identificazione, i metodi basati sul DNA non discriminano tra i microrganismi morti e vivi. Questo significa che essi non possono essere utilizzati direttamente sul prodotto ma solo dopo passaggio sul terreno di coltura tradizionale cosa che fa loro perdere una parte del vantaggio in rapidità. Inoltre, se utilizzati direttamente sul prodotto alla fine dell'analisi, questi metodi non consentono di ottenere un ceppo da utilizzare in altri esperimenti e possono non dare vantaggi quando i microrganismi da rivelare sono scarsamente coltivabili o in stato di stress. Le tecniche di amplificazione dell'RNA (per es. la RT-PCR) possono identificare i microrganismi (ma non le spore) direttamente nei prodotti, ma in confronto ai metodi tradizionali sono molto più difficili da utilizzare nella routine. D'altra parte quando sono utilizzati primers specifici, l'identificazione (o la tipizzazione) mediante le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici è più precisa dei metodi tradizionali ed in alcuni casi può avere altri vantaggi: per esempio, per l'identificazione di alcuni vaccini (per es. vaccino del colera, vaccino per la pertosse a cellule intere), il loro uso può sostituirsi all'utilizzo di

sieri specifici e contribuire a ridurre l'utilizzo di animali o, per altri vaccini (per es. BCG), possono permettere un'identificazione molto specifica prima impossibile.

Questi metodi sono generalmente non quantitativi (PCR) o semi-quantitativi (PCR in tempo reale). I loro risultati non possono dunque essere confrontati con quelli della conta delle colonie dove è richiesta la conta esatta dei microrganismi presenti nel campione, ma anche se la conta delle colonie ha una valenza consolidata nel tempo, questo assunto può non essere verificato per i batteri che hanno una tendenza a formare agglomerati (micobatteri) o sono organizzati in catene o in aggregati (clusters) (streptococchi, stafilococchi). Una standardizzazione precisa dei metodi semi-quantitativi può dare risultati confrontabili in termini di attendibilità.

4-5-2. Convalida per l'uso effettivo previsto

Il metodo è convalidato in accordo con le disposizioni del capitolo 2.6.21. Il confronto tra i metodi convenzionali e i metodi basati sulla PCR, che differiscono in sensibilità e specificità, è particolarmente difficile e può portare a conclusioni divergenti.

L'esempio seguente è pubblicato per informazione e non per l'applicazione generale.

ESEMPIO DI UNA CONVALIDA DI UN METODO ALTERNATIVO: PROTOCOLLO DETTAGLIATO SEGUITO DA UN LABORATORIO PER L'APPLICAZIONE DELLA BIOLUMINESCENZA

CONTESTO

I metodi che prevedono una fase di incubazione preliminare in terreno di coltura liquido (bioluminescenza in tubo o in piastra di microtitolazione) non danno informazioni quantitative ma permettono di determinare la presenza/assenza nella quantità di prodotto analizzata. Se si utilizzano più quantità differenti di campione, il sistema può offrire una determinazione semi-quantitativa (saggio limite). Per esempio, la quantità di prodotto classicamente esaminata per la conta aerobica totale dei prodotti non sterili è 0,1 g o 0,1 ml e permette di concludere l'assenza in 0,1 g o in 0,1 ml; un risultato negativo corrisponde dunque ad un numero di microrganismi inferiore a 10 in 1 g o in 1 ml e un risultato positivo ad un numero di microrganismi superiore o uguale a 10 in 1 g o in 1 ml.

Se si esamina contemporaneamente una quantità di 0,01 g o 0,01 ml, un risultato negativo corrisponde ad un numero di microrganismi inferiore a 100 in 1 g o 1 ml. La combinazione di un risultato negativo per 0,01 g o 0,01 ml e di un risultato positivo per 0,1 g o 0,1 ml permette una valutazione del livello di contami-

nazione del prodotto che è inferiore a 100 microrganismi ma superiore o uguale a 10 microrganismi per grammo o per millilitro.

Come indicato nella sezione 2, la bioluminescenza può essere utilizzata come un metodo quantitativo se i microrganismi sono trattiene su una membrana filtrante e poi incubati in un terreno di coltura (bioluminescenza su membrana).

Il protocollo riportato di seguito descrive la convalida di metodi di bioluminescenza qualitativi, semi-quantitativi e quantitativi.

QUALIFICAZIONE DELLE PRESTAZIONI DEL METODO ALTERNATIVO

Specificità

Valutare il metodo utilizzando il microrganismo di riferimento appropriato per il metodo. Per esempio, per la conta dei microrganismi aerobi vivi dei prodotti non sterili, usare almeno i microrganismi descritti nel capitolo 2.6.12 per verificare la fertilità dei terreni di coltura in presenza del prodotto. Questa determinazione è effettuata almeno 3 volte con ciascun microrganismo.

Criterio di accettazione: tutti i microrganismi di riferimento sono rivelati con successo.

Limite di rivelazione (solo per metodi qualitativi e semi-quantitativi)

Preparare un piccolo inoculo (circa 5 UFC nel campione iniziale) di ciascun microrganismo di riferimento. Effettuare l'analisi con almeno 5 repliche con il metodo di farmacopea e il metodo di bioluminescenza considerati.

Criterio di accettazione: la capacità dei 2 metodi di rivelare la presenza di un solo microrganismo può essere dimostrata usando il saggio χ^2 .

Procedura alternativa: preparare per ciascun microrganismo di riferimento delle serie di diluizioni che danno una conta di 5 UFC per inoculo (per esempio 10 UFC/inoculo, 5 UFC/inoculo, 2,5 UFC/inoculo, 1,25 UFC/inoculo, 0,75 UFC/inoculo). Effettuare il saggio su 5 serie indipendenti con il metodo della farmacopea e con il metodo di bioluminescenza. Determinare il limite di rivelazione per ciascun metodo. Questo corrisponde all'ultima diluizione per la quale si ottiene un risultato positivo nelle 5 serie. Criterio di accettazione: il limite di rivelazione del metodo di bioluminescenza è uguale o inferiore a quello del metodo della farmacopea.

Limite di quantificazione (metodo quantitativo)

Questa può essere determinata contemporaneamente alla determinazione della linearità. Essa corrisponde alla concentrazione più bassa dell'intervallo di misura

scelto che soddisfa i criteri di linearità, di accuratezza e di precisione. Criterio di accettazione: il limite di quantificazione del metodo di bioluminescenza è uguale o inferiore a quelli del metodo di farmacopea.

Precisione

Valutazioni quantitative. Per ciascun microrganismo di riferimento, effettuare almeno 5 ripetizioni durante la stessa serie comprendente almeno la concentrazione di microrganismi che corrisponde al centro dell'intervallo. Effettuare tre saggi indipendenti. Effettuare l'analisi statistica per confrontare la precisione dei due metodi o calcolare il coefficiente di variazione (CV).

Criterio di accettazione: coefficiente di variazione dal 15 per cento al 20 per cento oppure nessuna differenza di precisione con il rischio alfa uguale al 5 per cento tra i due metodi. Se la precisione è differente, il metodo di bioluminescenza è superiore al metodo della farmacopea e questo è indicato da una deviazione standard inferiore.

Valutazione qualitativa o semi-quantitativa. Usare la procedura alternativa descritta per la definizione del limite di rivelazione e riportare la frequenza dei risultati positivi in parallelo con il metodo di farmacopea.

Criterio di accettazione: la frequenza dei risultati positivi ottenuti al limite di rivelazione è il 100 per cento e questa frequenza è superiore o uguale a quella ottenuta con il metodo di farmacopea.

Linearità

Per ciascun microrganismo di riferimento, preparare cinque concentrazioni comprese nell'intervallo di misura del metodo di bioluminescenza (generalmente indicato dall'ideatore del metodo). Effettuare in parallelo il metodo di farmacopea e il metodo di bioluminescenza. Ripetere questo saggio due altre volte per avere i risultati di tre saggi indipendenti. Effettuare i saggi di regressione lineare, di pendenza e di assenza di correzione con il saggio F ad alfa uguale al 5 per cento. Se l'analisi statistica non è possibile, calcolare il coefficiente di correlazione (R^2) e la pendenza tra i due metodi. Criteri di accettazione: l'analisi statistica può mostrare la regressione lineare, la presenza di una pendenza e nessuna perdita di aderenza con un rischio del 5 per cento. Determinare l'equazione $y = a + bx$, dove b è la pendenza e a l'intercetta. Se non è disponibile un'analisi statistica, R^2 deve essere uguale o superiore a 0,9 e la pendenza non deve discostarsi di più del 20 per cento del valore 1 (b compreso tra 0,8 e 1,2). Se la linearità non è dimostrata in tutto l'intervallo questo può essere ridotto e la linearità può essere dimostrata soltanto con 3 concentrazioni anziché 5.

Accuratezza

Valutazione quantitativa. L'accuratezza può essere determinata con i dati ottenuti per la linearità. Per ciascun microrganismo usare da 3 a 5 concentrazioni comprese nell'intervallo di linearità del metodo.

Effettuare un'analisi statistica (saggio t di Student al rischio 5 per cento) per verificare la conformità della pendenza stimata (valore = 1) *versus* la pendenza ottenuta e per verificare la conformità dell'intercetta stimata (valore = 0) *versus* il valore dell'intercetta ottenuta. Per esempio, se la pendenza stimata è b con una deviazione standard $s_{(b)}$ di 0,090 con 5 concentrazioni di microrganismi, calcolare $t = (b-1)/s_{(b)}$. Per l'intercetta a , con una deviazione standard uguale a $s_{(a)} = (a_s-0)/s_{(a)}$. Confrontare questi valori con il valore t di Student al 5 per cento, per 13 gradi di libertà (3 saggi, 5 concentrazioni). Criterio di accettazione: se i valori t ottenuti sono inferiori ai valori t di Student, il metodo è esatto nell'intervallo applicato. Nel caso di non conformità della pendenza (pendenza differente da 1) o per l'intercetta (intercetta diversa da zero) il metodo non è esatto nell'intervallo applicato.

Valutazione qualitativa o semi-quantitativa. Usare la procedura alternativa descritta per la definizione del limite di rivelazione. Calcolare la percentuale di falsi negativi per il metodo di bioluminescenza e per il metodo di farmacopea di tutte le diluizioni sottoposte a saggio. Confrontare le percentuali di falsi negativi ottenuti per le 2 o 3 concentrazioni di microrganismi appena al di sotto del limite di rivelazione (per esempio 5 UFC/inoculo, 2,5 UFC/inoculo o 1,25 UFC/inoculo) che danno un risultato positivo. Per definizione il limite di rivelazione corrisponde allo 0 per cento di falsi negativi. Criterio di accettazione: la percentuale di falsi negativi per il metodo di bioluminescenza alle concentrazioni del campione inferiori al limite di rivelazione deve essere uguale o inferiore a quello del metodo di farmacopea.

Intervallo di misura

Questo è l'intervallo compreso tra la concentrazione più bassa e quella più alta dei microrganismi per le quali sono dimostrate la linearità, la precisione e l'accuratezza.

Robustezza

Questa informazione è fornita dal fabbricante.

CONVALIDA PER L'USO EFFETTIVO PREVISTO

Nell'esempio considerato, non è necessario determinare l'accuratezza e il limite di rivelazione in presenza del prodotto. La convalida consiste di 3 parti che permettono di verificare:

- *fase 1*: la fertilità del terreno di coltura in presenza del prodotto;
- *fase 2*: l'assenza di interferenza derivante dal prodotto che può aumentare o inibire la produzione di ATP;
- *fase 3*: l'esame del prodotto in parallelo con il metodo di farmacopea.

Queste 3 fasi di convalida sono eseguite su 3 saggi indipendenti utilizzando, per esempio, almeno 2 lotti differenti di prodotto.

Fase 1: fertilità del terreno di coltura in presenza del prodotto

Se il prodotto presenta un livello di contaminazione noto (più di 500 microrganismi per grammo o millilitro), la fase di incubazione non è necessaria, i microrganismi possono essere rivelati direttamente. In questo caso, il controllo della fertilità del terreno di coltura in presenza del prodotto non è necessario. Tuttavia, i prodotti farmaceutici sono generalmente contaminati ad un livello inferiore e la crescita del microrganismo è necessaria per ottenere la rivelazione mediante bioluminescenza. Si deve dunque dimostrare che il prodotto non inibisce la crescita dei microrganismi nelle condizioni del saggio. A questo fine, aggiungere separatamente un inoculo di non più di 100 UFC per ciascun microrganismo di riferimento nella porzione di terreno di coltura contenente il prodotto. Per la bioluminescenza in tubo o in piastra di microtitolazione, effettuare il saggio di bioluminescenza. Per la bioluminescenza su membrana, incubare a 30-35 °C oppure a 20-25 °C per 5 giorni e contare le colonie bioluminescenti presenti sulla membrana. Criterio di accettazione: il saggio è positivo (bioluminescenza in tubo o in piastra di microtitolazione); il recupero quantitativo del microrganismo è almeno il 70 per cento (bioluminescenza su membrana).

Fase 2: ricerca della interferenza del prodotto

L'obiettivo è di dimostrare che il prodotto non introduce luce parassita o ATP di origine non microbica (non porta ad un risultato positivo falso: criterio A) o non diminuisce la rivelazione dell'ATP (non porta ad un risultato negativo falso: criterio B).

Bioluminescenza in tubo o in piastra di microtitolazione

- Effettuare il saggio di bioluminescenza con il terreno di coltura liquido da solo o con il terreno di coltura liquido in presenza del prodotto. Determinare il valore ULR per il terreno di coltura da solo e il valore ULR per il terreno di coltura in presenza del prodotto.
- Effettuare il saggio di bioluminescenza con il terreno di coltura liquido da solo o con il terreno di

coltura liquido in presenza di ATP. Determinare il coefficiente di risposta per la concentrazione di ATP in percentuale.

Criterio di accettazione:

- *criterio A*: il valore ULR del terreno di coltura in presenza del prodotto è inferiore al doppio del valore del terreno di coltura da solo (se il criterio A non è soddisfacente, è necessario determinare una soglia specifica per questo prodotto);
- *criterio B*: il valore ULR per il terreno di coltura in presenza del prodotto e dell'ATP è compreso nell'intervallo dal 25 per cento al 200 per cento del valore ULR del terreno di coltura in presenza di ATP.

Bioluminescenza su membrana: effettuare un saggio di bioluminescenza completo per ricercare l'interferenza. Criterio di accettazione: il recupero dei microrganismi è superiore o uguale al 70 per cento e non superiore al 200 per cento.

Fase 3: analisi del prodotto in parallelo con il metodo di farmacopea

Effettuare il saggio in accordo con il metodo convalidato per il prodotto considerato in parallelo con il metodo di farmacopea per mostrare la relazione tra i 2 metodi per il prodotto considerato su 3 saggi indipendenti ed utilizzando almeno 2 lotti differenti. Esprimere il risultato come positivo o negativo in una quantità definita di prodotto (bioluminescenza in tubo o in piastra di microtitolazione) oppure esprimere il numero di microrganismi per quantità di prodotto filtrata (bioluminescenza su membrana). Criterio di accettazione: i risultati devono essere correlati con il metodo di farmacopea.

5.1.7. SICUREZZA VIRALE

Questo capitolo contiene i requisiti generali concernenti la sicurezza virale dei prodotti medicinali la cui fabbricazione comporta l'uso di materiali di origine umana o animale.

Considerato che la sicurezza virale è una questione complessa, è importante procedere ad una valutazione del rischio. I requisiti da applicare ad uno specifico medicinale sono decisi dalle Autorità competenti.

Quando esiste il rischio di contaminazione virale, si adottano misure complementari, a seconda del caso, per garantire la sicurezza virale dei medicinali, sulla base di:

- selezione dei materiali di partenza e la ricerca di contaminanti virali,

Linea guida per l'uso del saggio di sterilità

- controllo della capacità del processo di produzione per eliminare e/o inattivare i virus,
- ricerca di contaminazione virale ad appropriati stadi di produzione.

Quando appropriato, si applicano uno o più procedimenti convalidati per l'eliminazione o l'inattivazione dei virus.

Ulteriori raccomandazioni dettagliate sulla sicurezza virale, incluso studi di convalida, sono fornite, in particolare, dalla *Note for guidance on virus validation studies: the design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses* (CPMP/BWP/268/95) del Committee for Proprietary Medicinal Products e dalla linea guida *ICH Q5A: Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin* (inclusa ogni successiva revisione di questi documenti).

I requisiti riguardanti i prodotti immunologici per uso veterinario sono trattati nelle monografie *Vaccini per uso veterinario (0062)* e *Sierimmuni per uso veterinario (0030)* e nei relativi capitoli generali.

Valutazione del rischio

Una valutazione del rischio relativo alla sicurezza virale viene effettuata quando materiali di origine umana o animale sono utilizzati come ingredienti dei medicinali o nella fabbricazione di principi attivi, eccipienti o prodotti medicinali.

Il principio della valutazione del rischio consiste nel considerare i vari fattori che possono influenzare il livello potenziale di particelle infette nel prodotto medicinale e quei fattori legati all'uso del prodotto medicinale che determinano o influenzano il rischio virale per gli individui trattati.

La valutazione del rischio prende in considerazione rilevanti fattori, per esempio:

- la specie di origine;
- organo, tessuto, fluido di origine;
- i contaminanti potenziali sulla base dell'origine delle materie prime e della storia del (dei) donatore (i), includendo preferibilmente dati epidemiologici;
- i contaminanti potenziali derivanti dal processo di fabbricazione (per esempio, da materiali a rischio usati durante la fabbricazione);
- l'infettività e la patogenicità dei contaminanti potenziali per gli individui ai quali i medicinali sono destinati, tenendo conto della via di somministrazione del medicinale stesso;
- la quantità di materiale usato per produrre una dose del prodotto medicinale;

- i controlli effettuati sul (sui) donatore (i), sulle materie prime, durante la produzione e sul prodotto finito;
- il processo di fabbricazione del prodotto e la sua capacità di eliminare e/o inattivare i virus.

La valutazione del rischio può essere basata principalmente sulle condizioni di fabbricazione se queste includono delle tappe di inattivazione rigorose (per esempio, per la gelatina ecc., e per i prodotti che saranno oggetto di sterilizzazione finale mediante vapore o calore secco, come descritto nei testi generali sulla sterilità (5.1)).

5.1.9. LINEA GUIDA PER L'USO DEL SAGGIO DI STERILITÀ

Lo scopo del saggio di sterilità, come quello di tutti i saggi di farmacopea, è di fornire ad un'analista controllore indipendente i mezzi per verificare se un particolare prodotto soddisfa i requisiti della Farmacopea Europea. Un fabbricante non è tenuto ad effettuare il saggio, né questi saggi precludono di utilizzare delle modifiche ad essi o di utilizzare metodi alternativi a quello indicato, purché sia stabilito che il prodotto in questione se fosse controllato con il metodo ufficiale soddisferebbe ai requisiti della Farmacopea Europea.

PRECAUZIONI PER PREVENIRE LA CONTAMINAZIONE MICROBICA

Le condizioni asettiche per l'esecuzione del saggio possono essere ottenute usando, per esempio, una cappa a flusso laminare di classe A situata all'interno di una stanza pulita di classe B o in un isolatore.

INDICAZIONI PER I FABBRICANTI

Il livello di assicurazione fornito da un risultato soddisfacente del saggio di sterilità (assenza di unità contaminate nel campione) riguardo alla qualità totale del lotto è una funzione dell'omogeneità del lotto, delle condizioni di fabbricazione e dell'efficienza del piano di campionamento utilizzato. Questo il motivo per il quale nello scopo di questo saggio un lotto è definito come un insieme omogeneo di contenitori sigillati preparati in modo tale che il rischio di contaminazione sia lo stesso per ciascuna delle unità che lo costituiscono.

Nel caso di prodotti sottoposti a sterilizzazione terminale, l'assicurazione che forniscono le prove fisiche, biologicamente fondate e registrate automaticamente che dimostrano il corretto trattamento dell'intero lotto

durante la sterilizzazione, è superiore a quella fornita dal saggio di sterilità. Le circostanze nelle quali il rilascio parametrico può essere considerato appropriato sono descritte nel capitolo *Metodi di preparazione di prodotti sterili (5.1.1)*. Il metodo che utilizza terreni di riferimento (media-fill) può essere utilizzato per valutare il processo di produzione asettica. A parte questo, il saggio di sterilità è il solo metodo analitico disponibile per i prodotti preparati in condizioni asettiche e inoltre è, in tutti i casi, il solo metodo analitico a disposizione delle Autorità che devono controllare la sterilità di un campione di un prodotto.

La probabilità di rivelare i microrganismi mediante il saggio di sterilità cresce all'aumentare del loro numero all'interno del campione sottoposto a saggio e varia a seconda della velocità di crescita dei microrganismi presenti. La probabilità di rivelare livelli bassissimi di contaminazione, anche quando questa è omogenea nel lotto, è molto bassa. L'interpretazione dei risultati del saggio di sterilità si basa sull'ipotesi che il contenuto di ciascun recipiente che costituisce il lotto avrebbe dato lo stesso risultato se fosse stato sottoposto a saggio. Poiché è evidente che non può essere sottoposto a saggio ogni contenitore, deve essere adottato un appropriato piano di campionamento. Nel caso di produ-

zione asettica, si raccomanda di esaminare campioni ripartiti in recipienti all'inizio e alla fine del lotto e dopo ogni intervento significativo.

OSSERVAZIONE ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Le tecniche microbiologiche/biochimiche convenzionali sono generalmente soddisfacenti per l'identificazione dei microrganismi isolati nel saggio di sterilità. Tuttavia, se un fabbricante desidera utilizzare la condizione (d) come criterio unico per invalidare un saggio di sterilità, può essere necessario ricorrere a tecniche di tipizzazione sensibili per dimostrare che un microrganismo isolato dal prodotto in esame è identico al microrganismo isolato dai materiali in esame e/o dal campionamento ambientale.

Mentre le tecniche di routine di identificazione microbiologica/biochimica possono dimostrare che due isolati non sono identici, questi metodi possono non essere sufficientemente sensibili o affidabili nel fornire l'evidenza inequivocabile che i due isolati derivino dalla stessa fonte. Possono essere necessari saggi più sensibili, per esempio la tipizzazione molecolare basata sulla percentuale di omologia RNA/DNA, per stabilire se i microrganismi sono geneticamente correlati ed hanno un'origine comune.

5.2. Argomenti generali sui prodotti biologici

5.2.	Argomenti generali sui prodotti biologici	709	5.2.6	Valutazione dell'innocuità dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario	723
5.2.1	Terminologia usata nelle monografie dei prodotti biologici	709	5.2.7	Valutazione dell'efficacia dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario	726
5.2.2.	Allevamenti di polli esenti da patogeni specificati per la produzione e il controllo di qualità dei vaccini	710	5.2.8.	Minimizzazione del rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali tramite i prodotti medicinali per uso umano e veterinario.	727
5.2.3	Substrati cellulari per la produzione di vaccini per uso umano	715	5.2.9.	Valutazione dell'innocuità di ciascun lotto dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario.	728
5.2.4.	Colture cellulari per la produzione di vaccini per uso veterinario.	719			
5.2.5.	Sostanze di origine animale per la produzione di vaccini per uso veterinario	722			

5.2. ARGOMENTI GENERALI SUI PRODOTTI BIOLOGICI

5.2.1. TERMINOLOGIA USATA NELLE MONOGRAFIE DEI PRODOTTI BIOLOGICI

Per alcune espressioni vengono riportati tra parentesi termini alternativi di uso comune nella terminologia dei vaccini veterinari.

Sistema di lotto di semenza. È un sistema secondo il quale i lotti successivi di un prodotto derivano dallo stesso lotto di semenza primario. Per la produzione di routine, può essere preparato un lotto di semenza di lavoro dal lotto di semenza primario. Si deve registrare l'origine e la cronologia dei passaggi del lotto di semenza primario e del lotto di semenza di lavoro.

Lotto di semenza primario. È una coltura di un microrganismo distribuita in contenitori da un'unica partita e lavorata nel corso di un'unica operazione, in modo tale da assicurare uniformità e stabilità e da prevenire qualsiasi contaminazione. Un lotto di semenza primario in forma liquida viene conservato, generalmente, ad una temperatura uguale o inferiore a -70 °C. Un lotto di semenza primario liofilizzato viene conservato ad una temperatura in grado di assicurarne la stabilità.

Lotto di semenza di lavoro. È una coltura di un microrganismo derivata dal lotto di semenza primario e destinata ad essere utilizzata nella produzione. I lotti di semenza di lavoro vengono ripartiti in contenitori e conservati come descritto precedentemente per il lotto di semenza primario.

Sistema di banca cellulare (Sistema di semenza cellulare). È un sistema secondo il quale i successivi lotti finali (lotti) di un prodotto vengono ottenuti mediante coltivazione su cellule derivate dalla stessa banca cellulare primaria (semenza cellulare primaria). Un certo numero di contenitori della banca cellulare primaria (semenza cellulare primaria) è usato per preparare una banca cellulare di lavoro (semenza cellulare di lavoro). Il sistema della banca cellulare (sistema di semenza cellulare) è convalidato al più alto livello di passaggio raggiunto durante gli abituali processi di produzione.

Banca cellulare primaria (Semenza cellulare primaria). È una coltura di cellule ripartita in contenitori nel corso di un'unica operazione, lavorata contemporaneamente e conservata in modo tale da assicurare uniformità, stabilità e da prevenire qualsiasi contaminazione. La banca cellulare primaria (semenza cellulare primaria) viene conservata, generalmente, ad una temperatura uguale o inferiore a -70 °C.

Banca cellulare di lavoro (Semenza cellulare di lavoro). È una coltura di cellule derivata dalla banca cellulare primaria e destinata ad essere utilizzata nella prepara-

zione delle colture cellulari da utilizzare per la produzione. La banca cellulare di lavoro (semenza cellulare di lavoro) viene ripartita in contenitori, lavorata e conservata come descritto per la banca cellulare primaria.

Culture di cellule primarie. Sono colture cellulari ottenute mediante trattamento di tessuti o di organi appropriati con tripsina. Le cellule sono essenzialmente identiche a quelle del tessuto di origine e non devono aver subito più di 5 passaggi *in vitro* dalla preparazione iniziale derivata dal tessuto animale.

Linee cellulari. Sono colture cellulari che hanno un'elevata capacità di replicazione *in vitro*. Nelle linee cellulari diploidi, le cellule hanno essenzialmente le stesse caratteristiche di quelle del tessuto di origine. Nelle linee cellulari continue, le cellule sono in grado di replicarsi all'infinito in coltura e possono essere ottenute da tessuti sani o tumorali. Alcune linee cellulari continue, in determinate condizioni, hanno un potenziale oncogenico.

Coltura cellulare da utilizzare per la produzione. È una coltura di cellule destinata ad essere utilizzata per la produzione; può derivare da uno o più contenitori della banca cellulare di lavoro (semenza cellulare di lavoro) oppure può essere una coltura di cellule primarie.

Cellule di controllo. Sono rappresentate da una quantità di cellule tenute separate, al momento della inoculazione del virus, come colture cellulari non infettate. Le colture cellulari non infettate sono incubate nelle stesse condizioni di quelle utilizzate per le colture cellulari da utilizzare per la produzione.

Raccolta singola. È il materiale prodotto, in una o più riprese, da una singola coltura cellulare da utilizzare per la produzione inoculata con lo stesso lotto di semenza di lavoro o con una sospensione derivata dal lotto di semenza di lavoro, incubata e raccolta in un singolo ciclo di produzione.

Miscela monovalente di raccolta. È una miscela di materiale contenente un singolo ceppo o tipo di microrganismo o di antigene e derivata da un certo numero di uova, contenitori di colture cellulari ecc., che sono lavorati contemporaneamente.

Sospensione madre finale di vaccino. È il materiale che ha subito tutte le fasi di produzione eccetto quella di riempimento finale. È formato da una o più miscele monovalenti di raccolte derivate da colture di una o più specie o tipi di microrganismi dopo chiarificazione, diluizione o aggiunta di qualsiasi adiuvante o altra sostanza ausiliaria. Viene trattato in modo tale da assicurare la sua omogeneità e viene utilizzato per riempire i contenitori di uno o più lotti finali (lotti).

Lotto finale (lotto). È un insieme di contenitori finali o di altre unità di dosaggio finali chiuse che sono conside-

rate omogenee ed equivalenti rispetto al rischio di contaminazione durante il riempimento o la preparazione del prodotto finale. Le unità di dosaggio vengono riempite, o preparate in altri modi, dalla stessa sospensione madre finale di vaccino, liofilizzate contemporaneamente (se possibile) e sigillate nel corso di un'unica sessione di lavoro. Sono contraddistinte da un numero o da un codice che identifica il lotto finale (lotto). Nel caso in cui la sospensione madre finale di vaccino venga ripartita in contenitori e/o liofilizzata nel corso di alcune sessioni di lavoro separate, si ottiene una serie di lotti finali (lotti) correlati che, generalmente, sono identificati mediante l'uso di una parte comune del numero o del codice di identificazione; questi lotti finali correlati sono talvolta definiti come sotto-lotti o lotti di riempimento.

Vaccino associato. È una preparazione polivalente formulata in modo tale da consentire la somministrazione contemporanea di diversi antigeni. Le differenti componenti antigeniche sono destinate a conferire protezione nei confronti dei diversi ceppi o tipi dello stesso microrganismo e/o di microrganismi diversi. Un vaccino associato può essere fornito dal produttore sia sotto forma di una singola preparazione liquida o liofilizzata che sotto forma di diversi costituenti con precise indicazioni per la loro associazione prima dell'uso.

5.2.2. ALLEVAMENTI DI POLLI ESENTI DA PATOGENI SPECIFICATI PER LA PRODUZIONE E IL CONTROLLO DI QUALITÀ DEI VACCINI

Quando indicato in una monografia, i polli, gli embrioni o le colture cellulari utilizzate per la produzione o il controllo di qualità dei vaccini devono essere ottenuti da uova prodotte in allevamenti di polli esenti da microrganismi patogeni specificati (EOPS). La qualifica EOPS di un allevamento è assicurata per mezzo del sistema di seguito descritto. La lista dei microrganismi indicati si basa sulle conoscenze attuali e viene aggiornata quando necessario.

Un allevamento è definito come un gruppo di volatili che vivono nello stesso ambiente e sono accuditi da propri addetti che non hanno alcun contatto con allevamenti non EOPS. Una volta definito l'allevamento, non è consentita l'introduzione di alcun volatile che non sia EOPS.

L'allevamento deve trovarsi in condizioni atte a ridurre il rischio di contaminazione. I locali nei quali l'allevamento è installato devono essere situati a distanza di qualsiasi allevamento di volatili non EOPS, ad eccezione degli allevamenti che sono inseriti nel processo di qualificazione come EOPS e posizionati in locali e

in condizioni appropriate all'allevamento EOPS. L'allevamento EOPS deve essere posizionato all'interno di un ambiente che garantisce l'isolamento o in un pollaio in cui circola aria filtrata a pressione positiva. Si devono prendere misure appropriate per impedire l'accesso di roditori, uccelli selvatici, insetti e personale non autorizzato.

Il personale autorizzato ad entrare nei locali non deve avere contatti con altri volatili o con agenti che possono infettare l'allevamento. Si consiglia al personale di fare la doccia e di cambiare i vestiti o di indossare indumenti di protezione prima di entrare nel pollaio.

Se possibile gli oggetti introdotti nell'allevamento devono essere sterilizzati. In particolare si raccomanda di trattare gli alimenti in maniera opportuna in modo da evitare l'introduzione di microrganismi indesiderati e di utilizzare acqua di qualità almeno equivalente a quella dell'acqua potabile, per esempio acqua proveniente da una fonte sottoposta a clorazione. Non deve essere somministrato ai volatili alcun farmaco che possa interferire con l'identificazione di una malattia nell'allevamento.

Si deve tenere un registro permanente al fine di controllare lo stato di salute generale dell'allevamento e qualsiasi anomalia evidenziata deve essere sottoposta ad indagine. I fattori da controllare comprendono la morbidità, la mortalità, le condizioni fisiche generali, il consumo di alimenti, la produzione giornaliera e la qualità delle uova, la fertilità e la schiusa delle uova. I registri sono conservati per almeno 5 anni. Ogni deviazione rispetto ai valori considerati normali dei parametri citati o qualsiasi infezione evidenziata sono oggetto di segnalazione dettagliata nel più breve tempo possibile agli utilizzatori.

I saggi o le combinazioni dei saggi descritti di seguito devono avere una specificità ed una sensibilità appropriata per quanto riguarda i sierotipi dei virus appropriati. I campioni per i saggi sono presi in maniera casuale.

Un risultato positivo per il saggio del virus dell'anemia del pollo (CAV) non necessariamente esclude il materiale che proviene dall'allevamento, ma i vaccini vivi che devono essere somministrati a volatili di età inferiore a 7 giorni devono essere prodotti con materiale proveniente da allevamenti CAV-negativi. I vaccini inattivati da somministrare a volatili di età inferiore a 7 giorni possono essere fabbricati con materiale proveniente da allevamenti per i quali non è stato provato che sono esenti da CAV a condizione che sia dimostrato che il procedimento di inattivazione applicato inattivi il virus dell'anemia del pollo (CAV).

DEFINIZIONE DI UN ALLEVAMENTO EOPS

L'allevamento qualificato come EOPS deve provenire da polli che si sono dimostrati esenti da agenti patogeni trasmessi per via verticale riportati nella tabella 5.2.2-1. A questo scopo si effettuano saggi su due generazioni precedenti quella dell'allevamento da qualificare come EOPS.

La procedura da seguire per stabilire e mantenere un allevamento EOPS è riassunta nella tabella 5.2.2-2. Inoltre per stabilire un nuovo allevamento EOPS, deve essere condotta una serie di saggi su 3 generazioni di volatili. Tutti i volatili della prima generazione devono essere sottoposti a saggio almeno una volta prima dell'età di 20 settimane per verificare l'assenza dell'antigene di gruppo della leucosi aviaria e sottoposti a saggio mediante dosaggio immunoenzimatico (EIA) per verificare l'assenza di anticorpi diretti contro i virus dei sottotipi A, B e J della leucosi aviaria. Tutti i volatili devono essere sottoposti a saggio per verificare l'assenza di anticorpi diretti contro gli agenti patogeni a trasmissione verticale riportati nella tabella 5.2.2-1. I volatili dell'allevamento sono controllati dall'età di 8 settimane per verificare l'assenza di *Salmonella*. Esami clinici sono effettuati sull'allevamento a partire dall'età di 8 settimane e i volatili non devono mostrare alcun segno di malattia infettiva. I metodi da utilizzare per questi saggi sono riportati nella tabella e ulteriori spiegazioni sono anche riportate di seguito nella sezione relativa ai controlli di routine degli allevamenti classificati EOPS. Quando i volatili raggiungono l'età di 20 settimane, l'allevamento è controllato come descritto nel paragrafo Controlli di routine degli allevamenti classificati EOPS. Tutte le fasi di questo regime di controllo sono anche applicate alle 2 generazioni successive, con l'eccezione della ricerca degli agenti patogeni a trasmissione verticale effettuata su ciascun volatile prima dell'ovodeposizione. Tutti i risultati dei saggi devono indicare l'assenza di agenti patogeni nelle 3 generazioni affinché l'allevamento costituito alla terza generazione possa essere qualificato come EOPS.

Possono essere introdotti embrioni EOPS ottenuti da un altro allevamento EOPS controllato e localizzato in un'installazione separata dello stesso impianto. A partire dall'età di 8 settimane questi volatili sono considerati appartenenti all'allevamento e sottoposti ai controlli descritti di seguito.

CONTROLLI INIZIALI DA REALIZZARE SULLE NUOVE GENERAZIONI DERIVATE DA UN ALLEVAMENTO CLASSIFICATO EOPS

Quando un allevamento di sostituzione deriva esclusivamente da un allevamento completamente EOPS la nuova generazione è sottoposta a saggio prima di essere classificata come EOPS. Oltre ai saggi per la *Salmonella* e al con-

trollo delle condizioni generali di salute e delle attività funzionali dell'allevamento, sono richiesti ulteriori saggi a partire dall'età di 8 settimane. Questi saggi sono effettuati in 2 popolazioni campione rappresentanti ciascuna il 5 per cento dell'allevamento (almeno 10 volatili e non più di 200), prelevate con un intervallo di almeno 4 settimane tra le 12-16 settimane e le 16-20 settimane.

Tutti i campioni sono prelevati ed esaminati individualmente. I campioni di sangue sono prelevati per ricercare gli anticorpi ed appropriati campioni sono prelevati per il saggio per la ricerca dell'antigene della leucosi. I metodi di saggio da utilizzare sono descritti nel paragrafo Controlli di routine di allevamenti classificati EOPS. Solo quando tutti i saggi hanno confermato l'assenza di infezione la nuova generazione è classificata come EOPS.

CONTROLLI DI ROUTINE DEGLI ALLEVAMENTI CLASSIFICATI EOPS

Esame generale e necroscopico. Effettuare un esame clinico almeno una volta a settimana durante tutta la durata della vita dell'allevamento per verificare che i volatili siano esenti dal virus del vaiolo aviario ed esenti da ogni altro segno di infezione. In caso di mortalità superiore allo 0,1 per cento per settimana, effettuare un esame necroscopico su tutte le carcasse disponibili per verificare l'assenza di segni di infezione. Nei casi opportuni, effettuare studi istopatologici e/o microbiologici/virologici per confermare la diagnosi. Effettuare una ricerca specifica per evidenziare le lesioni della tubercolosi e in caso di lesione sospetta effettuare un prelievo di campioni istologici che sono sottoposti a colorazione specifica al fine di verificare l'assenza di contaminazione da *Mycobacterium avium*. Verificare l'assenza di *Salmonella* spp. nel contenuto cecale di tutte le carcasse disponibili mediante esame microbiologico con l'ausilio delle tecniche descritte di seguito. Nei casi appropriati possono essere mescolati campioni cecali di più volatili (al massimo 5).

Ricerca in coltura della Salmonella spp. Effettuare saggi di coltura per la ricerca di *Salmonella* spp. a partire da campioni di escrementi o di spazzatura cloacale oppure da prelievi ottenuti per mezzo di tamponi. Nel caso di saggi effettuati a partire da escrementi o da spazzatura cloacale, conviene esaminare un totale di 60 campioni per un periodo di 4 settimane durante tutta la durata della vita dell'allevamento. I saggi possono essere effettuati su miscele al massimo di 10 campioni. Nel caso di prelievi su tamponi, conviene esaminare almeno 2 tamponi per un periodo di 4 settimane durante tutta la durata di vita dell'allevamento. La rivelazione per la *Salmonella* spp. è effettuata mediante un arricchimento preliminare dei campioni e poi coltura su terreno selettivo per la *Salmonella*.

Allev. di polli esenti da patogeni specif. per la produz. e il controllo di qualità dei vaccini

Tabella 5.2.2.-1

Agente infettivo	Metodo da utilizzare**	Trasmissione verticale	Diffusione rapida/lenta
Adenovirus aviari, gruppo 1	AGP, EIA	si	lenta
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	Agg e HI per confermare un risultato positivo, EIA, HI	si	lenta
<i>Mycoplasma synoviae</i>	Agg e HI per confermare un risultato positivo, EIA, HI	si	rapida
Ortoreovirus aviari	IS, EIA	si	lenta
<i>Salmonella pullorum</i>	Agg	si	lenta
Virus dell'anemia del pollo	IS, EIA, VN	si	lenta
Virus dell'encefalomielite aviaria	AGP, EIA	si	rapida
Virus dell'influenza tipo A	AGP, EIA, HI	no	rapida
Virus della borsite infettiva aviaria	Sierotipo 1: AGP, EIA, VN Sierotipo 2: VN	no	rapida
Virus della bronchite infettiva aviaria	HI, EIA	no	rapida
Virus della caduta dell'ovodeposizione	HI, EIA	si	lenta
Virus della laringotracheite infettiva aviaria	VN, EIA	no	lenta
Virus della leucosi aviaria	EIA per il virus, VN per l'anticorpo	si	lenta
Virus della malattia di Marek	AGP	no	rapida
Virus della malattia Newcastle	HI, EIA	no	rapida
Virus della nefrite aviaria	IS	no	lenta
Virus della reticoloendoteliosi aviaria	AGP, IS, EIA	si	lenta
Virus della rinotracheite del tacchino	EIA	no	lenta

Agg: agglutinazione

AGP: agar precipitazione; questa tecnica è appropriata quando il saggio è effettuato settimanalmente

EIA: dosaggio immoenzimatico

HI: inibizione dell'emoagglutinazione

IS: immunocolorazione

VN: virus neutralizzazione

** In accordo con l'Autorità competente si possono utilizzare altri tipi di saggio almeno della stessa sensibilità di quelli indicati e di specificità appropriata.

Tabella 5.2.2.-2. Rappresentazione schematica del processo di definizione e di mantenimento degli allevamenti EOPS

NUOVO ALLEVAMENTO	Stabilire l'assenza di agenti a trasmissione verticale
	Ricerca dell'antigene e degli anticorpi della leucosi aviaria su tutti i volatili prima dell'età di 20 settimane
	Ricerca della <i>Salmonella</i> spp. ed osservazione clinica generale a partire dall'età di 8 settimane
	Saggi di routine per la ricerca degli agenti specificati a partire dall'età di 20 settimane.
2 ^a GENERAZIONE	Ricerca dell'antigene e degli anticorpi della leucosi aviaria su tutti i volatili prima dell'età di 20 settimane
	Ricerca della <i>Salmonella</i> spp. ed osservazione clinica generale a partire dall'età di 8 settimane
	Saggi di routine per la ricerca degli agenti specificati a partire dall'età di 20 settimane.
3 ^a GENERAZIONE	Ricerca dell'antigene e degli anticorpi della leucosi aviaria su tutti i volatili prima dell'età di 20 settimane
	Ricerca della <i>Salmonella</i> spp. ed osservazione clinica generale a partire dall'età di 8 settimane
L'ALLEVAMENTO È CLASSIFICATO EOPS SE SODDISFA A TUTTI I SAGGI	
3 ^a GENERAZIONE	Saggi di routine per la ricerca degli agenti specificati a partire dall'età di 20 settimane.
	Saggi dopo l'ovodeposizione per stabilire l'assenza di agenti a trasmissione verticale
GENERAZIONI SUCCESSIVE	Ricerca dell'antigene della leucosi aviaria e degli anticorpi diretti contro gli agenti specificati su 2 campioni ognuno dei quali rappresenta il 5 per cento dell'allevamento, tra la 12 ^a e 20 ^a settimana
	Ricerca della <i>Salmonella</i> spp. ed osservazione clinica generale a partire dall'età di 8 settimane
	Saggi di routine per la ricerca degli agenti specificati a partire dall'età di 20 settimane
	Saggi dopo l'ovodeposizione per stabilire l'assenza di agenti a trasmissione verticale

Ricerca dell'antigene della leucosi aviaria. Prima dell'inizio dell'ovodeposizione, sottoporre a saggio tamponi cloacali o prelievi sanguigni (mediante colture della frazione leucocitaria) per rivelare la presenza dell'antigene specifico di ciascun gruppo della leucosi. Effettuare questi esami su un totale del 5 per cento (non meno di 10 e non più di 200) di volatili dell'allevamento per un periodo di 4 settimane. Durante l'ovodeposizione effettuare gli esami su campioni di albume ottenuto dal 5 per cento (non meno di 10 e non più di 200) di uova per un periodo di 4 settimane. I saggi sono effettuati mediante saggio immunoenzimatico (EIA) per l'antigene specifico di ciascun gruppo, utilizzando metodi che permettono di rivelare l'antigene dei sottogruppi A, B e J.

Ricerca di anticorpi diretti contro altri agenti. Effettuare la ricerca di anticorpi diretti contro l'insieme degli agenti riportati nella tabella 5.2.2.-1 durante tutta la durata del periodo dell'ovodeposizione dell'allevamento. Essi sono effettuati sul 5 per cento dell'allevamento (non meno di 10 e non più di 200 volatili) ogni 4 settimane. Si raccomanda di effettuare questi prelievi, ogni settimana, sull'1,25 per cento dell'allevamento, alcuni metodi di rivelazione degli agenti infettivi devono essere eseguiti in maniera casuale. La tabella 5.2.2.-1 classifica gli agenti in base alla loro rapidità di diffusione distinguendo quelli che si propagano rapidamente nell'allevamento, quelli che si propagano lentamente e quelli che non sono in grado di infettare l'intero allevamento. Per gli agenti classificati come a diffusione lenta esaminare i campioni singolarmente. Per gli agenti classificati come a diffusione rapida, esaminare singolarmente almeno il 20 per cento dei campioni prelevati ogni periodo di 4 settimane oppure, se si procede mediante saggio di siero-neutralizzazione o ELISA, i campioni possono essere esaminati singolarmente o sotto forma di miscele preparate a partire da 5 campioni singoli prelevati contemporaneamente.

Metodi di rivelazione appropriati sono riportati nella tabella 5.2.2.-1. Previa autorizzazione dell'Autorità competente, possono essere utilizzati altri metodi di saggio purché sia stato dimostrato che essi abbiano una sensibilità almeno uguale a quella dei metodi indicati ed abbiano una specificità appropriata.

SAGGI DA EFFETTUARE ALLA FINE DEL PERIODO DELL'OVODEPOSIZIONE

Alla fine dell'ultima raccolta delle uova, effettuare un controllo finale per confermare l'assenza degli agenti a trasmissione verticale riportati nella tabella 5.2.2.-1. A questo scopo conservare almeno il 5 per

cento dell'allevamento effettivo (non meno dei 10 e non più di 200) per almeno 4 settimane dopo l'ultima raccolta finale delle uova. Prelevare campioni di sangue da ciascun volatile del gruppo ogni 4 settimane e almeno l'1,25 per cento dei volatili (il 25 per cento del campione) è sacrificato non prima di 4 settimane dalla raccolta finale delle uova. Effettuare una ricerca degli agenti a trasmissione verticale (definiti nella tabella 5.2.2.-1) sui campioni di siero mediante i metodi indicati. Quando i campioni sono prelevati settimanalmente esaminare almeno l'1,25 per cento dei volatili (il 25 per cento del campione) ogni settimana durante questo periodo. Alternativamente, entro 4 settimane dalla raccolta finale, effettuare raccolte di sangue e/o di altri campioni appropriati su almeno il 5 per cento dell'allevamento effettivo e ricercare la presenza di agenti a trasmissione verticale in questi campioni mediante tecniche convalidate di amplificazione degli acidi nucleici (2.6.21).

MISURE DA PRENDERE IN CASO DI RIVELAZIONE DI UN AGENTE SPECIFICATO

Se i risultati mostrano l'esistenza di contaminazione dell'allevamento da parte di un agente classificato come a diffusione lenta nella tabella 5.2.2.-1, tutti i materiali che derivano dall'allevamento nel periodo di tempo di 4 settimane precedenti la data in cui è stato prelevato il campione positivo sono considerati non conformi. Analogamente, se i risultati mostrano l'esistenza di una contaminazione dell'allevamento da parte di un agente classificato come a diffusione rapida nella tabella 5.2.2.-1, tutti i prodotti che derivano dall'allevamento nel periodo di tempo di 2 settimane precedenti la data in cui è stato prelevato il campione positivo sono considerati non conformi. Qualsiasi prodotto fabbricato con questi materiali e per il quale è richiesto l'uso di materiali EOPS è considerato non conforme e deve essere eliminato; qualsiasi saggio di controllo della qualità effettuato usando questi materiali non è valido. I produttori devono notificare l'esistenza di contaminazione agli utilizzatori delle uova appena possibile dopo averla rilevata.

Un allevamento nel quale è stata evidenziata e confermata una contaminazione da parte di un agente specificato non può conservare il suo stato di allevamento EOPS.

La totalità della progenie derivata da questo allevamento a partire dalle 4 settimane precedenti il prelievo dell'ultimo campione negativo è esclusa dallo stato EOPS.

5.2.3. SUBSTRATI CELLULARI PER LA PRODUZIONE DI VACCINI PER USO UMANO

Questo capitolo generale tratta delle linee di cellule diploidi e di linee cellulari continue utilizzate per la produzione di vaccini per uso umano; alcuni punti specifici relativi ai vaccini preparati con la tecnica del DNA ricombinante sono trattati nella monografia *Prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante (0784)*. Nella tabella 5.2.3.-1 è riportata la lista dei saggi da effettuare nei diversi stadi (semenza cellulare, banca cellulare primaria, banca cellulare di lavoro, cellule ad un livello di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore al livello usato per la produzione). Le disposizioni generali relative all'uso delle linee cellulari e i metodi di saggio sono riportati di seguito.

Quando per la produzione di un vaccino si usano cellule primarie o cellule che hanno subito alcuni passaggi senza la costituzione di una banca cellulare, i requisiti sono riportati nella specifica monografia del vaccino in questione.

Linee cellulari diploidi. Una linea cellulare diploide possiede una capacità di moltiplicazione *in vitro* alta ma definita.

Linee cellulari continue. Una linea cellulare continua possiede una capacità illimitata di moltiplicazione *in vitro*; le cellule hanno spesso delle differenze di cariotipo rispetto alle cellule di origine; esse possono essere ottenute da tessuti sani o tumorali.

Nel caso di vaccini per uso iniettabile prodotti in linee cellulari continue, il processo di purificazione è convalidato per dimostrare la riduzione del DNA proveniente dal substrato cellulare ad un livello equivalente a non più di 10 ng per dose umana singola, salvo indicazione contraria.

Sistema di banca cellulare. La produzione di vaccini in cellule diploidi ed in linee cellulari continue è basata su un sistema di banca cellulare. L'età *in vitro* delle cellule è contata a partire dalla banca cellulare primaria. Preparare ciascuna banca cellulare di lavoro usando uno o più recipienti della banca cellulare primaria. L'uso, l'identità e il controllo d'inventario dei contenitori sono documentati accuratamente.

Terreni di coltura e sostanze di origine animale ed umana. La composizione dei terreni usati per l'isolamento e tutte le colture successive sono registrate in dettaglio e se si utilizzano sostanze di origine animale esse devono essere esenti da agenti estranei. Se si utilizza l'albumina umana, essa soddisfa alla monografia *Albumina umana soluzione (0255)*.

Il siero bovino usato per la preparazione e il mantenimento delle colture cellulari è sottoposto a saggio e deve dimostrare di essere sterile ed esente da virus di origine bovina, in particolare dal virus della diarrea dei bovini e dai micoplasmi.

La tripsina usata per la preparazione delle colture cellulari è esaminata con metodi appropriati e deve dimostrare di essere sterile ed esente da micoplasmi e da virus, in particolare pestivirus e parvovirus.

Semenza cellulare. I dati sulla base dei quali si valuta l'idoneità di una semenza cellulare comprendono l'informazione, se disponibile, sull'origine, la sua storia e la sua caratterizzazione.

Origine della semenza cellulare. Per le linee cellulari di origine umana si registrano le seguenti informazioni relative al donatore: origine etnica e geografica, età, sesso, condizione fisiologica generale, tessuto o organo utilizzato e i risultati di tutti i saggi per la ricerca di patogeni.

Per le linee cellulari di origine animale si registrano le seguenti informazioni relative all'origine delle cellule: specie, ceppo, condizioni di allevamento, origine geografica, età, sesso, condizioni fisiologiche generali dell'animale, tessuto o organo usato, risultato di tutti i saggi per la ricerca di patogeni.

Le cellule di origine neuronale, come neuroblastomi e linee cellulari P12, possono contenere sostanze che accumulano gli agenti delle encefalopatie spongiformi e pertanto queste cellule non si usano per la produzione del vaccino.

Storia della semenza cellulare. Si registrano le seguenti informazioni: il metodo usato per isolare la semenza cellulare, i metodi di coltura e qualsiasi altra procedura usata per allestire la banca cellulare primaria, in particolare quelle che possono implicare un'esposizione delle cellule ad agenti estranei.

Le informazioni complete degli ingredienti dei terreni di coltura usati nel passato per la coltivazione delle cellule possono non essere disponibili, come per esempio la provenienza delle sostanze di origine animale; nei casi autorizzati e giustificati, per la produzione del vaccino possono essere usate le banche cellulari già allestite usando tali terreni.

Caratterizzazione della semenza cellulare. Sono caratterizzate le seguenti proprietà:

- 1) l'identità delle cellule (per esempio isoenzimi, sierologia, impronta genomica);
- 2) le caratteristiche della crescita delle cellule e le loro proprietà morfologiche (microscopio ottico ed elettronico);
- 3) il cariotipo per le linee cellulari diploidi;
- 4) la durata della vita *in vitro* in termini di livelli di raddoppiamento della popolazione, per le linee cellulari diploidi.

Stabilità del substrato cellulare. Si deve dimostrare che la linea cellulare ha una idonea vitalità nelle condizioni di conservazione previste. Per un dato prodotto che deve essere preparato nella linea cellulare, è necessario dimostrare che si può ottenere una produzione riproducibile con le cellule appartenenti ai livelli di passaggio situati sia all'inizio che alla fine della durata prevista per l'uso.

Agenti infettivi estranei. Le linee cellulari utilizzate per la produzione del vaccino devono essere esenti da agenti infettivi estranei. I saggi per gli agenti estranei sono effettuati come indicato nella Tabella 5.2.3.-1.

In funzione dell'origine e della storia della linea cellulare, può essere necessario effettuare dei saggi per selezionati e specifici contaminanti potenziali, in particolare per quelli che risultano infettare in maniera latente le specie di origine, per esempio il virus 40 della scimmia per il reso *Macaca mulatta*. Per le linee cellulari provenienti da roditori, i saggi per la produzione degli anticorpi sono effettuati sui topi, i ratti e i criceti per rivelare i virus specifici per la specie.

Le linee cellulari sono esaminate per evidenziare la presenza di retrovirus come descritto di seguito. Le linee cellulari in cui si evidenzia la presenza di retrovirus in grado di replicarsi non sono accettabili per la produzione del vaccino.

Tumorigenicità. Per la preparazione di vaccini vivi la linea cellulare non deve essere tumorigena a qualsiasi livello di raddoppiamento della popolazione usato per la produzione del vaccino. Quando per la produzione di altri tipi di vaccino è usata una linea cellulare tumorigena, il processo di purificazione deve essere convalidato per dimostrare che il DNA residuo proveniente dal substrato cellulare è ridotto a meno di 10 ng per dose umana singola di vaccino, se non diversamente prescritto, e che le proteine derivate dal substrato cellulare sono ridotte ad un livello accettabile.

Una linea cellulare che possiede un potenziale tumorigeno riconosciuto non deve essere sottoposta ad un ulteriore saggio. Se non si conosce il potenziale tumorigeno della linea cellulare, essa è considerata come tumorigena ed è sottoposta al saggio di tumorigenicità usando un saggio *in vitro* come descritto di seguito; se il risultato del saggio *in vitro* è negativo o non è chiaramente positivo, si effettua un saggio *in vivo* come descritto di seguito. I saggi sono effettuati usando cellule ad un livello di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore a quello usato per la produzione del vaccino.

Le linee cellulari MRC-5, WI-38 e FRhL-2 sono riconosciute come non tumorigene e non è necessario sottoporle ad ulteriori saggi.

Caratterizzazione cromosomica. Le linee cellulari diploidi dovranno dimostrare di essere diploidi. Se non è stata convalidata l'eliminazione delle cellule intatte durante il processo successivo alla raccolta, è richiesta una caratterizzazione più estensiva della linea cellulare diploide mediante l'analisi del cariotipo. Esaminare dei campioni provenienti da quattro livelli di passaggio distribuiti uniformemente lungo la durata di vita della linea cellulare. Esaminare almeno 200 cellule in metafase per la conta esatta dei cromosomi, per verificare la frequenza di casi di iperplodia, ipoploidia, poliploidia e per verificare la frequenza di rotture ed anomalie strutturali.

Le linee cellulari MRC-5, WI-38 e FRhL-2 sono riconosciute come diploidi e ben caratterizzate. Non è richiesta una ulteriore caratterizzazione se esse non sono state modificate geneticamente.

METODI DI SAGGIO PER LE COLTURE CELLULARI

Identificazione. L'identità delle cellule è stabilita sulla base dell'analisi dell'impronta genomica e di una selezione appropriata degli aspetti seguenti:

- 1) caratteristiche biochimiche (analisi degli isoenzimi),
- 2) caratteristiche immunologiche (antigeni di istocompatibilità),
- 3) marcatori citogenetici.

Cellule contaminanti. L'analisi dell'impronta genomica effettuata per l'identificazione serve anche per dimostrare l'assenza di cellule contaminanti.

Contaminazione batterica e fungina. La banca cellulare primaria e ciascuna banca cellulare di lavoro soddisfa al saggio di sterilità (2.6.1) effettuato usando, per ciascun terreno di coltura, 10 ml di fluido soprannatante proveniente dalle colture cellulari. Effettuare il saggio sull'1 per cento dei recipienti, con un minimo di due recipienti.

Micoplasm (2.6.7). La banca cellulare primaria e ciascuna banca cellulare di lavoro soddisfa il saggio per i micoplasm effettuato con il metodo di coltura e il metodo delle colture cellulari indicatrici. Per il saggio usare uno o più recipienti.

Saggio degli agenti estranei in colture cellulari. Le cellule soddisfano al saggio per i virus emoadsorbenti e ai saggi in colture cellulari per gli altri agenti estranei riportati nel capitolo 2.6.16 nella sezione Colture cellulari per la produzione: cellule di controllo. Se le cellule derivano dalla scimmia, sono inoculate anche in colture cellulari di rene di coniglio per il saggio dell'herpes virus B (herpes virus 1 di cercopiteco).

Co-coltivazione. Co-coltivare separatamente cellule intatte e cellule lisate con altri sistemi cellulari comprese le cellule umane e le cellule di scimmia. Effettuare delle ricerche per evidenziare possibili cambiamenti morfologici. Effettuare i saggi sui fluidi delle colture cellulari per evidenziare i virus emoagglutinanti. Le cellule soddisfano al saggio se non si riscontra la presenza di agenti estranei.

Retrovirus. Ricerca la presenza di retrovirus mediante:

- 1) un dosaggio di trascrittasi inversa (dosaggio PERT product-enhanced reverse transcriptase) (2.6.1) effettuato sul soprannatante delle banche cellulari utilizzando le cellule ad un livello di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore a quello usato per la produzione;
- 2) microscopia elettronica di emissione.
Se il saggio 1) e/o il saggio 2) dà un risultato positivo, effettuare il saggio 3);
- 3) dosaggi di infettività effettuati su cellule con un dosaggio PERT al punto finale sul soprannatante.

Poiché i dosaggi PERT hanno una sensibilità altissima, l'interpretazione di un segnale positivo può essere equivoca e una decisione relativa all'accettazione di un substrato cellulare deve essere basata su tutti i dati disponibili.

Saggi su animali. Iniettare per via intramuscolare (o per via sottocutanea nel caso di topi lattanti) a ciascuno dei seguenti gruppi di animali, 10^7 cellule vive, divise ugualmente tra gli animali di ciascun gruppo:

- 1) due nidiate di topi lattanti di età inferiore a 24 h, ciascuna costituita da almeno 10 animali,
- 2) dieci topi adulti.

Iniettare 10^6 cellule vive, per via intracerebrale, a ciascuno di dieci topi adulti al fine di evidenziare la possibile presenza del virus della coriomeningite linfocitaria.

Osservare gli animali per almeno 4 settimane. Esaminare gli animali che si ammalano o mostrano qualsiasi anomalia per stabilire la causa della malattia. Le cellule soddisfano al saggio se non si riscontra la presenza di agenti estranei. Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento degli animali di ciascun gruppo rimane sano e sopravvive alla fine del periodo di osservazione.

Per le cellule ottenute da specie di roditori (per esempio, cellule ovariche di criceto cinese o cellule di rene di piccoli di criceto), i saggi per gli anticorpi nei confronti dei probabili contaminanti virali delle specie interessate sono effettuati su animali ai quali sono state iniettate le cellule.

Saggi su uova. Usare un inoculo di 10^6 cellule vitali per uovo; iniettare le cellule nella cavità allantoidea di dieci uova embrionate di gallina EOPS (5.2.2), dell'età di 9-11 giorni e nel sacco del tuorlo di dieci uova embrionate di gallina EOPS, dell'età di 5-6 giorni. Incubare per almeno 5 giorni. Sottoporre a saggio i fluidi allantoidei per evidenziare la presenza di emoagglutinina usando globuli rossi di origine umana ed aviaria; effettuare il saggio a temperature di 5 ± 3 °C e 20-25 °C e leggere i risultati dopo 30 min e 60 min.

Le cellule soddisfano al saggio se non si riscontra la presenza di qualsiasi agente estraneo.

Il saggio è valido solo se almeno l'80 per cento degli embrioni è sano e sopravvive fino alla fine del periodo di osservazione.

Saggio per la tumorigenicità *in vitro*. Può essere usato il sistema seguente:

- 1) formazione di colonie in gel molle di agar,
- 2) produzione di una crescita cellulare invasiva dopo inoculazione nelle colture di organi,
- 3) studio della trasformazione dell'attività usando, per esempio, il sistema di dosaggio 3T3 per gli oncogeni attivi.

Saggio per la tumorigenicità *in vivo*. Il saggio consiste nello stabilire un confronto tra la linea cellulare e l'appropriato controllo positivo (per esempio, cellule HeLa o Hep2).

I sistemi animali che hanno dimostrato di essere appropriati per questo saggio comprendono:

- 1) topi atimici (genotipo Nu/Nu),
- 2) topi, ratti o criceti neonati che sono stati trattati con un siero o una globulina antitimociti,
- 3) topi timoctomizzati ed irradiati che sono stati ricostituiti (T^- , B^+) mediante il midollo osseo di topi sani.

Indipendentemente dal sistema animale selezionato, la linea cellulare e le cellule di riferimento sono iniettate in gruppi separati ciascuno di 10 animali. In entrambi i casi, l'inoculo per ciascun animale è di 10^7 cellule sospese in un volume di 0,2 ml e l'iniezione può essere effettuata sia per via intramuscolare che per via sottocutanea. Gli animali neonati sono trattati con 0,1 ml di siero o di globulina antitimociti i giorni 0, 2, 7 e 14 dalla nascita.

Un siero o una globulina sono considerati potenti se sopprimono il meccanismo immunitario di crescita degli animali ad un livello tale che il successivo inoculo di 10^7 cellule di riferimento positive produce regolarmente dei tumori e delle metastasi. Gli animali malati gravemente che presentano evidenti tumori con crescita progressiva sono sacrificati prima della fine del saggio per evitare sofferenze inutili.

Alla fine del periodo di osservazione tutti gli animali, compresi i gruppi di riferimento, sono sacrificati ed esaminati nel sito di iniezione ed in altri organi (per esempio linfonodi, polmoni, reni e fegato) per ricercare i segni macroscopici e microscopici della proliferazione delle cellule inoculate.

In tutti i sistemi di saggio, gli animali sono osservati e palpato ad intervalli regolari per evidenziare la formazione di noduli nei siti di iniezione. Misurare ogni nodulo che si forma in due direzioni perpendicolari e registrare regolarmente le misurazioni per determinare se c'è una crescita progressiva del nodulo. Gli animali che presentano noduli che iniziano a regredire durante il periodo di osservazione sono sacrificati prima che i noduli non siano più palpabili e sono sottoposti ad esame istologico. Gli animali con noduli progressivamente crescenti sono tenuti in osservazione per 1-2 settimane; mentre una metà di quelli che non presentano la formazione di noduli sono tenuti in osservazione per 3 settimane e l'altra metà per 12 settimane prima di essere sacrificati e sottoposti ad esame istologico. Effettuare l'autopsia su ciascun animale e ricercare i segni macroscopici della formazione di tumori nel sito di iniezione e in altri organi come linfonodi, polmoni, cervello, milza, reni e fegato. Effettuare l'esame istologico di tutte le probabili lesioni tumorali e del sito di iniezione. Inoltre poiché alcune linee cellulari possono provocare metastasi senza segni di crescita tumorale locale, effettuare l'esame istologico dei linfonodi regionali rivelabile e dei polmoni di tutti gli animali.

Il saggio è valido solo se nove dei dieci animali ai quali sono state iniettate le cellule di riferimento positive presentano tumori con crescita progressiva.

Substrati cellulari per la produzione di vaccini per uso umano

Tabella 5.2.3.-1. Saggi da effettuare sulle linee cellulari

Saggi	Semenza cellulare	Banca cellulare primaria (BCP)	Banca cellulare di lavoro (BCL)	Cellule ad un livello di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore a quello usato per la produzione
1. IDENTITA' E PUREZZA				
Morfologia	+	+	+	+
Impronta genomica, e selezione principale tra i saggi seguenti: biochimici (per es. isoenzimi), immunologici (per es. istocompatibilità), marcatori citogenetici	+	+	+	+
Cariotipo (linee cellulari diploidi)	+	+	+(1)	+(1)
Durata della vita (linee cellulari diploidi)	-	+	+	-
2. AGENTI ESTRANEI				
Contaminazione batterica e fungina	-	+	+	-
Micoplasmi	-	+	+	-
Saggi in colture cellulari	-	-	+	-
Co-coltivazione	-	-	+(2)	+(2)
Saggi in animali e in uova	-	-	+(2)	+(2)
Saggi specifici per contaminanti possibili che dipendono dall'origine delle cellule (vedere sopra in Agenti infettivi estranei)	-	-	+(2)	+(2)
Retrovirus	-	+(3)	-	+(3)
3. TUMORIGENICITÀ				
Tumorigenicità	+(5)	-	-	+(4)

(1) Il carattere diploide di ciascuna banca cellulare di lavoro è stabilito ad un livello massimo di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore a quello usato per la produzione.

(2) I saggi sono effettuati per ciascuna banca cellulare di lavoro, ma usando cellule ad un livello massimo di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore a quello usato per la produzione.

(3) I saggi sono effettuati per ciascuna banca cellulare primaria ma usando cellule ad un livello massimo di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore a quello usato per la produzione.

(4) Le linee cellulari MRC5, WI-38 e FRhL-2 sono riconosciute come non tumorigene e non sono sottoposte a saggi ulteriori. I saggi non si effettuano su linee cellulari conosciute o considerate tumorigene.

(5) Saggio effettuato sulla semenza cellulare, ma utilizzando cellule ad un livello di raddoppiamento della popolazione uguale o superiore a quello usato per la produzione.

5.2.4. COLTURE CELLULARI PER LA PRODUZIONE DI VACCINI PER USO VETERINARIO

Le colture cellulari utilizzate per la produzione di vaccini per uso veterinario devono soddisfare ai requisiti riportati nel presente capitolo. Può anche essere necessario che le colture cellulari utilizzate per il controllo dei vaccini per uso veterinario devono soddisfare ad una parte o a tutti i requisiti indicati.

Per la maggior parte dei virus dei mammiferi, è possibile la propagazione in linee cellulari e pertanto l'impiego di cellule primarie non è accettabile.

Le colture cellulari persistentemente infette usate per la produzione di vaccini veterinari soddisfano ai requisiti appropriati descritti di seguito. Si deve dimostrare che le cellule risultano infette esclusivamente con l'agente indicato.

LINEE CELLULARI

Le linee cellulari sono generalmente manipolate secondo un sistema di semenza cellulare. Ad ogni semenza cellulare primaria viene assegnato un codice specifico per l'identificazione. La semenza cellulare primaria viene conservata in aliquote ad una temperatura uguale o inferiore a -70 °C. Generalmente, la produzione del vaccino non viene effettuata su cellule che hanno subito più di 20 passaggi dalla semenza cellulare primaria. Nel caso in cui siano utilizzate colture in sospensione, viene considerato equivalente ad un passaggio un aumento del numero delle cellule corrispondente a circa tre volte un raddoppiamento della popolazione. Se per la produzione devono essere utilizzate cellule a un livello di passaggi superiore a venti, si deve dimostrare, mediante convalida o ulteriori saggi, che le colture cellulari per la produzione sono essenzialmente simili alla semenza cellulare primaria per quanto riguarda le loro caratteristiche biologiche e la purezza e che l'impiego di tali cellule non ha un effetto deleterio sulla produzione del vaccino.

La cronologia della linea cellulare (per esempio origine, numero di passaggi e terreni di coltura utilizzati per la moltiplicazione e le condizioni di conservazione) deve essere nota e registrata in dettaglio.

Il metodo di conservazione e di impiego delle cellule, compresi i dettagli riguardanti le garanzie relative al mancato superamento del limite massimo di passaggi consentito durante la produzione deve essere registrato. Una sufficiente quantità della semenza cellulare primaria e di ciascuna semenza cellulare di lavoro deve essere conservata per fini analitici.

I saggi descritti di seguito (come prescritto nella Tabella 5.2.4.-1) sono effettuati su una coltura della semenza cellulare primaria e sulla semenza cellulare di lavoro o sulle colture cellulari derivate dalla semenza cellulare di lavoro al più alto livello di passaggio utilizzato per la produzione e derivata da un campione omogeneo dimostratosi rappresentativo.

Tabella 5.2.4.-1. - *Stadi di sviluppo delle colture cellulari ai quali devono essere effettuati i saggi.*

	Semenza cellulare primaria	Semenza cellulare di lavoro	Cellule derivate dalla semenza cellulare di lavoro al più alto livello di passaggio
Microscopia generale	+	+	+
Batteri e funghi	+	+	-
Micoplasmi	+	+	-
Virus	+	+	-
Identificazione della specie	+	-	+
Cariotipo	+	-	+
Tumorigenicità	+	-	-

Caratteristiche della coltura. Deve essere descritto l'aspetto dei monostrati cellulari, prima e dopo la colorazione istologica. Fornire informazioni, se possibile dati numerici, in particolare sulla velocità e il grado di crescita. Analogamente specificare la presenza o l'assenza di inibizione da contatto, di cellule polinucleate e di ogni altra anomalia cellulare.

Cariotipo. Deve essere effettuato un esame del cromosoma di almeno 50 cellule in mitosi sulla semenza cellulare primaria e ad un livello di passaggio elevato almeno quanto quello utilizzato nella produzione. Qualsiasi marcatore cromosomiale presente nella semenza cellulare primaria deve essere ritrovato anche nelle cellule al più alto livello di passaggio e il valore modale dei cromosomi in queste cellule non deve essere superiore del 15 per cento di quello delle cellule della semenza cellulare primaria. I cariotipi devono essere identici. Se il valore modale supera il livello indicato, se i marcatori cromosomiali non vengono ritrovati nella semenza cellulare di lavoro al più alto livello di passaggio utilizzato per la produzione o se il cariotipo differisce, la linea cellulare non deve essere utilizzata per la produzione.

Identificazione della specie. Deve essere dimostrato, mediante un metodo convalidato, che la semenza cellulare primaria e le cellule derivate dalla semenza cellu-

Argomenti Generali

lare di lavoro al più alto livello di passaggio utilizzato per la produzione derivano dalla specie di origine specificata. Quando si effettua un saggio di fluorescenza e si utilizza il corrispondente siero nei confronti della specie di origine delle cellule e si dimostra che tutte le cellule sottoposte a saggio sono fluorescenti, non è necessario effettuare altri saggi con reattivi in grado di evidenziare la contaminazione da parte di cellule di altre specie.

Contaminazione batterica e fungina. Le cellule soddisfano al saggio di sterilità (2.6.1). Il campione di cellule da esaminare è costituito almeno dal numero di cellule presenti in un monostrato avente una superficie di 70 cm² o, nel caso di cellule in sospensione, da un numero di cellule approssimativamente corrispondente. Le cellule sono mantenute in coltura per almeno 15 giorni senza antibiotici prima di effettuare il saggio.

Micoplasm (2.6.7). Le cellule soddisfano al saggio dei micoplasm. Le cellule sono mantenute in coltura per almeno 15 giorni senza antibiotici prima di effettuare il saggio.

Assenza di virus contaminanti. Le cellule non devono essere contaminate da virus; effettuare saggi opportunamente sensibili, compresi quelli prescritti di seguito.

I monostrati sottoposti a saggio devono avere una superficie di almeno 70 cm² e devono essere preparati e mantenuti usando un terreno di coltura ed additivi, e fatti sviluppare nelle stesse condizioni di quelle utilizzate per la preparazione del vaccino. I monostrati sono mantenuti in coltura per un totale di almeno 28 giorni. Allestire delle sottocolture ad intervalli di 7 giorni; nel caso in cui le cellule non sopravvivano per periodi così lunghi, le sottocolture devono essere allestite il più tardi possibile. Cellule in quantità sufficienti, in contenitori idonei, vengono prodotte per la sottocoltura finale sulla quale si effettuano i saggi specificati di seguito.

Esaminare i monostrati regolarmente durante il periodo di incubazione per evidenziare la eventuale presenza di effetti citopatici e, alla fine del periodo di osservazione degli effetti citopatici, di virus emoadsorbenti e di altri virus specifici mediante immunofluorescenza o altri saggi idonei come indicato di seguito.

Determinazione di virus citopatici. Colorare due monostrati di almeno 6 cm² ciascuno con un appropriato colorante per cellule. L'intera superficie di ciascun monostrato colorato viene esaminata per evidenziare la presenza di corpi inclusi, di un numero anormale di cellule giganti o di altre lesioni indicative di un'anomalia cellulare che potrebbe essere attribuibile ad un contaminante.

Determinazione di virus emoadsorbenti. Lavare alcune volte, con un'appropriata soluzione tampone, monostrati aventi una superficie totale di almeno 70 cm² e aggiungere un volume di un'appropriata sospensione di globuli rossi sufficiente a coprire, in maniera uni-

forme, la superficie del monostrato. Esaminare le cellule a diversi tempi di incubazione per evidenziare la presenza di emoadsorbimento.

Determinazione di virus specificati. Effettuare dei saggi per escludere la presenza di contaminanti specifici nei confronti della specie di origine della linea cellulare e della specie cui è destinato il prodotto. Preparare una quantità sufficiente di cellule su idonei supporti per effettuare i saggi per la ricerca di agenti specificati. Includere idonei controlli positivi in ciascun saggio. Le cellule sono sottoposte a saggi appropriati ad esempio utilizzando anticorpi coniugati con fluoresceina o reattivi simili.

Saggi su altre colture cellulari. Sono richiesti monostrati aventi una superficie totale di almeno 140 cm². Congelare e scongelare le cellule almeno tre volte e quindi centrifugare per rimuovere i detriti cellulari. Inoculare aliquote di cellule nelle cellule di seguito riportate in qualunque momento prima del raggiungimento di una confluenza corrispondente al 70 per cento:

- cellule primarie della specie di origine;
- cellule sensibili ai virus patogeni per le specie cui è destinato il vaccino;
- cellule sensibili ai pestivirus.

Mantenere in coltura le cellule inoculate per almeno 7 giorni; preparare quindi degli estratti per congelamento e scongelamento nel modo precedentemente descritto ed inocularli in un numero sufficiente di colture allestite di recente dello stesso tipo di cellule in modo da permettere di effettuare i saggi descritti di seguito. Le cellule vengono incubate per almeno altri 7 giorni. Le colture sono esaminate regolarmente per evidenziare qualsiasi effetto citopatico indicativo della presenza di microrganismi vivi.

Alla fine di questo periodo di 14 giorni, sottoporre le cellule inoculate ai seguenti controlli:

- assenza di microrganismi citopatici ed emoadsorbenti, utilizzando i metodi specificati ai paragrafi principali precedentemente riportati;
- assenza di pestivirus e di altri specifici contaminanti, mediante immunofluorescenza o altri metodi convalidati come indicato al paragrafo precedentemente riportato sulla Determinazione di virus specificati.

Tumorigenicità. Valutare il rischio di una linea cellulare nei confronti della specie bersaglio e, se necessario, effettuare saggi appropriati.

CELLULE PRIMARIE

Per la maggior parte dei vaccini destinati ai mammiferi, l'impiego di cellule primarie per la produzione di vac-

cini non è accettabile in quanto possono essere utilizzate delle linee cellulari. Se non vi sono alternative all'uso di cellule primarie, le cellule devono essere ottenute da animali provenienti da allevamenti esenti da microrganismi patogeni specificati, dotati di sistemi di protezione totale nei confronti dell'introduzione di malattie (per esempio barriere, filtri per l'aria in entrata, adeguata quarantena prima dell'introduzione degli animali). Gli allevamenti di polli soddisfano ai requisiti prescritti nel capitolo Allevamenti di polli esenti da patogeni specificati per la produzione e il controllo di qualità dei vaccini (5.2.2). Per tutte le altre specie deve essere dimostrata, sia nei confronti degli animali che nei confronti degli allevamenti di origine, l'assenza dei principali patogeni specificati. Tutti i riproduttori degli allevamenti destinati ad essere utilizzati per la produzione di cellule primarie per la produzione del vaccino sono sottoposti a procedure di monitoraggio idonee che comprendono regolari controlli sierologici effettuati almeno due volte all'anno e due controlli sierologici supplementari effettuati sul 15 per cento dei riproduttori nell'intervallo di tempo compreso tra i due precedenti controlli.

Se possibile, in particolare per le cellule di mammiferi, usare un sistema di lotto di semenza, per esempio, una semenza cellulare primaria allestita dopo meno di 5 passaggi, una semenza cellulare di lavoro allestita con cellule che hanno subito non più di 5 passaggi dalla preparazione iniziale della sospensione di cellule derivata dai tessuti dell'animale.

Ciascuna semenza cellulare primaria, semenza cellulare di lavoro e le cellule al più alto livello di passaggio delle cellule primarie sono controllate secondo lo schema riportato alla Tabella 5.2.4.-2 e la procedura descritta di seguito. Il campione sottoposto a saggio deve comprendere tutte le fonti di cellule utilizzate per la produzione del lotto. Non può essere rilasciato nessun lotto di vaccino prodotto utilizzando cellule per le quali non siano stati ottenuti risultati soddisfacenti in tutti i controlli effettuati.

Tabella 5.2.4.-2. - *Stadi di sviluppo della coltura cellulare ai quali devono essere effettuati i saggi.*

	Semenza cellulare primaria	Semenza cellulare di lavoro	Più alto livello di passaggio
Microscopia generale	+	+	+
Batteri e funghi	+	+	-
Micoplasmi	+	+	-
Virus	+	+	-
Identificazione della specie	+	-	-

Caratteristiche della coltura. Descrivere l'aspetto dei monostrati cellulari, prima e dopo la colorazione istologica. Fornire informazioni, se possibile dati numerici, in particolare sulla velocità e il grado di crescita. Analogamente specificare la presenza o l'assenza di inibizione da contatto, di cellule polinucleate e di ogni altra anomalia cellulare.

Identificazione della specie. Si deve dimostrare mediante un saggio convalidato, che la semenza cellulare primaria deriva dalla specie di origine specificata.

Quando si effettua un saggio di fluorescenza utilizzando il corrispondente siero nei confronti della specie di origine delle cellule e si dimostra che tutte le cellule sottoposte a saggio sono fluorescenti, non è necessario effettuare altri saggi con reattivi in grado di evidenziare la contaminazione da parte di cellule di altre specie.

Contaminazione batterica e fungina. Le cellule soddisfano al saggio di sterilità (2.6.1). Il campione di cellule da esaminare è costituito almeno dal numero di cellule presenti in un monostrato avente una superficie di 70 cm² o, nel caso di cellule in sospensione, da un numero di cellule approssimativamente corrispondente. Le cellule sono mantenute in coltura per almeno 15 giorni senza antibiotici prima di effettuare il saggio.

Micoplasmi (2.6.7). Le cellule soddisfano al saggio dei micoplasmi. Le cellule sono mantenute in coltura per almeno 15 giorni senza antibiotici prima di effettuare il saggio.

Assenza di virus contaminanti. Le cellule non devono essere contaminate da virus; effettuare saggi opportunamente sensibili, compresi quelli prescritti di seguito.

I monostrati sottoposti a saggio devono avere una superficie di almeno 70 cm² e devono essere preparati e mantenuti usando un terreno di coltura ed additivi e fatti sviluppare nelle stesse condizioni di quelle utilizzate per la preparazione del vaccino.

I monostrati sono mantenuti in coltura per un totale di almeno 28 giorni o per il periodo più lungo possibile se il mantenimento in coltura per 28 giorni è impossibile. Allestire delle sottocolture a intervalli di 7 giorni; nel caso in cui le cellule non sopravvivano per periodi così lunghi, le sottocolture devono essere allestite il più tardi possibile. Produrre cellule in quantità sufficiente, in contenitori idonei, per la sottocoltura finale sulla quale si effettuano i saggi specificati di seguito.

Esaminare i monostrati regolarmente durante il periodo di incubazione per evidenziare l'eventuale presenza di effetti citopatici e, alla fine del periodo di osservazione degli effetti citopatici, di virus emoadsorbenti e di altri virus specifici mediante immunofluorescenza o altri saggi idonei come indicato di seguito.

Determinazione di virus citopatici. Colorare due monostrati di almeno 6 cm² ciascuno con un appropriato colorante per cellule. L'intera superficie di ciascun monostrato colorato viene esaminata per evidenziare la presenza di corpi inclusi, di numero anormale di cellule giganti o di altre lesioni indicative di un'anomalia cellulare che può essere attribuibile ad un contaminante.

Determinazione di virus emoadsorbenti. Lavare alcune volte, con un'appropriata soluzione tampone, monostrati aventi una superficie totale di almeno 70 cm² e aggiungere un volume di un'appropriata sospensione di globuli rossi sufficiente a coprire, in maniera uniforme, la superficie del monostrato. Esaminare le cellule a diversi tempi di incubazione per evidenziare la presenza di emoadsorbimento.

Determinazione di virus specificati. Effettuare dei saggi per escludere la presenza di contaminanti specifici nei confronti della specie di origine della linea cellulare e della specie cui è destinato il prodotto. Preparare una quantità sufficiente di cellule su idonei supporti per effettuare i saggi per la ricerca di agenti specificati. Includere idonei controlli positivi in ciascun saggio. Le cellule sono sottoposte a saggi appropriati, per esempio, utilizzando anticorpi coniugati con fluoresceina o reattivi simili.

Saggi su altre colture cellulari. Sono richiesti monostrati aventi una superficie totale di almeno 140 cm². Le cellule vengono congelate e scongelate almeno tre volte e quindi centrifugate per rimuovere i detriti cellulari. Inoculare aliquote di cellule nelle cellule di seguito riportate, in qualunque momento prima del raggiungimento di una confluenza corrispondente al 70 per cento:

- cellule primarie della specie di origine;
- cellule sensibili ai virus patogeni per le specie cui è destinato il vaccino;
- cellule sensibili ai pestivirus.

Mantenere in coltura le cellule inoculate per almeno 7 giorni; preparare quindi degli estratti per congelamento e scongelamento nel modo precedentemente descritto ed inocularli in un numero sufficiente di

colture recenti dello stesso tipo di cellule in modo da permettere di effettuare i saggi descritti di seguito. Le cellule vengono incubate per almeno altri 7 giorni. Tutte le colture vengono esaminate regolarmente per evidenziare qualsiasi effetto citopatico indicativo della presenza di microrganismi vivi.

Alla fine di questo periodo di 14 giorni, sottoporre le cellule inoculate ai seguenti controlli:

- dimostrare l'assenza di microrganismi citopatici ed emoadsorbenti usando i metodi specificati ai paragrafi principali precedentemente descritti;
- i substrati principali sono sottoposti a saggio per verificare l'assenza di pestivirus e di altri specifici contaminanti mediante immunofluorescenza o altri metodi convalidati come indicato al paragrafo precedentemente riportato Determinazione di virus specificati.

5.2.5. SOSTANZE DI ORIGINE ANIMALE PER LA PRODUZIONE DI VACCINI PER USO VETERINARIO

Le sostanze di origine animale (ad esempio siero, tripsina e albumina sierica) possono essere utilizzate nel corso della produzione di prodotti immunologici per uso veterinario, come componenti dei terreni di coltura ecc., o come costituenti aggiunti dei vaccini o come diluenti. Ove possibile, si raccomanda di ridurre l'uso di queste sostanze.

Sono previste alcune restrizioni all'uso di queste sostanze per minimizzare il rischio associato ai patogeni che possono essere presenti nelle sostanze di origine animale.

- L'uso di sostanze di origine animale come costituenti di vaccini o come diluenti non è generalmente accettabile, ad eccezione dei casi in cui tali sostanze siano sterilizzate mediante un appropriato metodo convalidato. Nei casi in cui l'impiego di tali sostanze si è dimostrato essenziale e non è possibile effettuare la sterilizzazione, applicare i criteri descritti alla sezione Requisiti.
- Le sostanze di origine animale utilizzate nel corso della produzione vengono sottoposte ad una procedura di sterilizzazione o di inattivazione convalidata appropriata o sono sottoposte a saggio per verificare l'assenza di microrganismi estranei in conformità con i Requisiti indicati di seguito. Per i vaccini inattivati, il metodo utilizzato per l'inattivazione del ceppo vaccinale può essere anche con-

validato nei confronti dell'inattivazione di possibili contaminanti derivati da sostanze di origine animale.

Oltre alle restrizioni descritte di seguito, i produttori devono, nei locali di produzione dei vaccini, considerare le restrizioni relative alla manipolazione di sostanze di origine animale.

Le restrizioni imposte da queste sezioni possono essere modificate in funzione della diversa incidenza della malattia nel Paese di origine e in Europa.

REQUISITI

Le sostanze di origine animale soddisfano ai requisiti della Farmacopea (quando esiste una monografia pertinente).

Origine. Valutare attentamente il rischio correlato alle malattie animali che si verificano nel Paese di origine della sostanza e alle potenziali malattie infettive proprie della specie di origine, in relazione alle specie animali cui la sostanza è destinata. Si devono applicare criteri di selezione il più possibile severi, in particolare per sostanze da usare per allestire prodotti destinati alle stesse specie animali da cui la sostanza deriva e per le sostanze di origine bovina, caprina, ovina e suina.

Preparazione. Le sostanze di origine animale devono essere preparate da un lotto omogeneo individuato da un numero. Un lotto può contenere sostanze derivanti da diversi animali, ma una volta che esso è stato definito e ad esso è stato attribuito un numero di lotto, non deve essere aggiunto null'altro o non deve essere contaminato in alcun modo.

Tutti i lotti di sostanze devono essere esenti da contaminanti come descritto di seguito e/o sono sottoposti a procedure di inattivazione convalidate.

Inattivazione. Dimostrare che la procedura di inattivazione prescelta è in grado di ridurre il titolo di alcuni potenziali contaminanti presenti nella sostanza in questione almeno di un fattore 10^6 . Qualora non fosse possibile dimostrare sperimentalmente questa diminuzione del titolo, si devono effettuare, con risultati soddisfacenti, studi sulla cinetica della procedura di inattivazione, considerando il possibile livello di contaminazione.

La lista dei potenziali microrganismi contaminanti per i quali deve essere dimostrata la capacità della procedura di inattivazione utilizzata, deve essere appropriata alla particolare specie di origine della sostanza. La prova dell'efficacia della procedura, che deve essere

riferita alle specifiche condizioni di applicazione, può essere rappresentata sia da dati pubblicati che da dati sperimentali elaborati e forniti dal produttore.

Saggi. Per il controllo dell'assenza di agenti contaminanti nella sostanza, le sostanze solide vengono disciolte o sospese in un terreno di coltura appropriato in modo tale da ottenere una soluzione o una sospensione contenente almeno 300 g/l della sostanza da esaminare. Se la sostanza non è solubile o nel caso in cui si verificano reazioni citotossiche, utilizzare una concentrazione inferiore.

Ogni lotto di sostanza risultata contaminata da microrganismi vivi di qualsiasi tipo viene reputato non soddisfacente ed è eliminato o sottoposto ad un ulteriore processo di inattivazione e deve risultare soddisfacente.

Assenza di virus estranei. La soluzione o la sospensione della sostanza solida o la sostanza liquida non diluita vengono sottoposte a saggio per escludere la presenza di contaminanti mediante metodi opportunamente sensibili. Questi metodi comprendono saggi su colture cellulari opportunamente sensibili, comprese le cellule primarie provenienti dalla stessa specie di origine della sostanza in esame. Una parte delle colture cellulari è sottoposta ad almeno due passaggi.

Osservare le cellule regolarmente per 21 giorni per evidenziare gli effetti citopatici. Ogni 7 giorni, una parte delle colture cellulari di partenza viene fissata, colorata ed esaminata per evidenziare la comparsa di effetti citopatici; una parte è sottoposta a saggio per evidenziare la presenza di agenti emoadsorbenti ed un'altra parte è sottoposta a saggio per evidenziare agenti specifici mediante appropriati saggi siero-diagnostici.

Contaminazione batterica e fungina. Prima dell'uso le sostanze sono sottoposte al saggio di sterilità (2.6.1), di assenza di micoplasmi (2.6.7) o sterilizzate per inattivare qualsiasi contaminante batterico, fungino o micoplasmico.

5.2.6. VALUTAZIONE DELL'INNOCUITÀ DEI VACCINI E DEI SIERIMMUNI PER USO VETERINARIO

Il termine prodotto utilizzato nel testo definisce sia un vaccino sia un sierimmune.

Nel corso dello sviluppo effettuare saggi di innocuità sulla specie bersaglio allo scopo di mettere in evidenza i rischi derivanti dall'uso del prodotto.

Vaccini. Nei saggi di laboratorio, il termine "dose" indica la quantità di prodotto raccomandata per l'uso

e contenente il titolo massimo o l'attività biologica che si presume siano contenuti nei lotti di produzione. I vaccini vivi devono essere preparati solo da ceppi di microrganismi dei quali è stata dimostrata l'innocuità. Nel caso dei vaccini vivi, utilizzare per i saggi un lotto o più lotti di vaccino preparati dal passaggio meno attenuato che viene utilizzato per la produzione.

Nel caso di vaccini associati è necessario dimostrarne l'innocuità; per i componenti vivi dei vaccini associati, deve essere dimostrata separatamente per ciascun ceppo vaccinale la conformità ai requisiti particolari per i vaccini vivi riportati di seguito.

Nel caso dei vaccini inattivati, i saggi di innocuità effettuati sul vaccino associato possono essere considerati sufficienti per dimostrare l'innocuità dei singoli componenti.

Sierimmuni. Nei saggi il termine "dose" indica la quantità massima di prodotto raccomandata per l'uso e contenente l'attività massima e il titolo massimo di proteine totali che si presume siano contenuti nei lotti di produzione. Inoltre, la dose utilizzata per il saggio deve anche contenere, nei casi appropriati, la quantità massima di immunoglobulina o di gammaglobulina.

I saggi descritti di seguito, modificati o integrati dai saggi descritti nella sezione Produzione di una specifica monografia, possono essere effettuati come parte dei saggi necessari, nel corso dello sviluppo, per dimostrare l'innocuità di un prodotto.

A. SAGGI DI LABORATORIO

Innocuità della somministrazione di una dose singola. Somministrare una dose di vaccino, attraverso ciascuna via di somministrazione raccomandata, ad animali recettivi di ciascuna specie e categoria per le quali si raccomanda l'uso del prodotto. Il gruppo deve comprendere animali dell'età minima raccomandata ed animali gravidi, se del caso. Gli animali sono mantenuti in osservazione ed esaminati almeno una volta al giorno per evidenziare i segni di reazioni anormali locali o sistemiche. Se del caso, questi studi comprendono dettagliati esami post-mortem macroscopici e microscopici del punto di inoculazione. Registrare anche altri criteri oggettivi, come la temperatura corporea (per i mammiferi) e le misurazioni delle prestazioni funzionali. Registrare la temperatura corporea almeno il giorno prima della somministrazione del prodotto, al momento della somministrazione, 4 h dopo questa e nei 4 giorni successivi alla somministrazione. Tenere gli animali in osservazione ed esaminarli almeno una volta al giorno fino

a quando si può escludere la comparsa di reazioni, ma in tutti i casi, protrarre il periodo di osservazione e di controllo per almeno 14 giorni dopo la somministrazione.

Studi della funzione riproduttrice. Gli studi di innocuità devono anche comprendere l'esame della funzione riproduttiva nel caso in cui i dati suggeriscono che il materiale di partenza dal quale deriva il prodotto può rappresentare un fattore di rischio. Nei casi prescritti in una monografia, studiare la funzione riproduttiva nei maschi, nelle femmine gravide e non, gli effetti dannosi sulla progenie, compresi quelli teratogeni e abortigeni per ciascuna via di somministrazione raccomandata.

Innocuità della somministrazione di una dose singola in eccesso. Somministrare una dose in eccesso del prodotto, attraverso ciascuna via di somministrazione raccomandata, ad animali appartenenti alle categorie più sensibili delle specie bersaglio, compresi gli animali dell'età minima e gli animali gravidi, se del caso. La dose in eccesso consiste, generalmente, di 10 dosi di vaccino vivo o di 2 dosi di un prodotto inattivato o di un sierimmune. Per i vaccini vivi liofilizzati, le 10 dosi devono essere ricostituite in un volume appropriato di diluente. Gli animali vengono tenuti in osservazione ed esaminati per evidenziare i segni di reazioni locali e generali. Si registrano anche altri criteri obiettivi, come la temperatura corporea per i mammiferi e le prestazioni funzionali. Tenere gli animali in osservazione ed esaminarli per almeno 14 giorni dopo la somministrazione. Se il vaccino è destinato ad animali gravidi effettuare il saggio quando questi animali sono nello stadio nel quale la somministrazione del vaccino non è controindicata e prolungare il periodo di osservazione almeno fino al parto. Osservare gli animali e registrare ogni effetto sulla gestazione o sulla progenie. In casi molto particolari, come i sierimmuni, quando è evidente che la somministrazione di una dose in eccesso non è indicata e il saggio non è effettuato, i danni potenziali associati al sovradosaggio devono essere chiaramente segnalati nei documenti che accompagnano il prodotto.

Innocuità della somministrazione ripetuta di una dose singola. Può essere richiesta la somministrazione ripetuta di una dose singola allo scopo di individuare gli effetti collaterali provocati da una tale somministrazione. Questi saggi sono particolarmente importanti quando il prodotto (in particolare un sierimmune) può essere somministrato più volte in un periodo di tempo relativamente breve. Effettuare questi saggi sulle categorie di animali più sensibili delle specie ber-

saggio, attraverso ciascuna via di somministrazione raccomandata. Il numero di somministrazioni non deve essere inferiore al numero massimo raccomandato; per i vaccini questo tiene conto del numero di somministrazioni per la prima vaccinazione e il primo richiamo; per i sierimmuni questo tiene conto del numero di somministrazioni richiesto per il trattamento. L'intervallo di tempo che intercorre tra le somministrazioni deve essere appropriato (per es. il periodo di rischio o la durata di trattamento richiesta) e compatibile con il modo d'uso raccomandato per il prodotto. Nel caso dei vaccini, per ragioni di comodità, è ammesso utilizzare nello studio intervalli più brevi di quelli previsti nel campo, ma deve essere mantenuto almeno un intervallo di 14 giorni tra le somministrazioni per permettere lo sviluppo di eventuali reazioni di ipersensibilità. Invece per i sierimmuni la somministrazione seguirà lo schema raccomandato. Gli animali sono tenuti in osservazione per almeno 14 giorni dopo l'ultima somministrazione per evidenziare i segni di reazioni locali o generali. Si registrano anche altri criteri obiettivi di valutazione come la temperatura corporea per i mammiferi e le prestazioni funzionali.

Residui. Nel caso di vaccini vivi per malattie zoonotiche ben conosciute, può essere richiesta la determinazione dei microrganismi vaccinali residui nel punto di inoculazione oltre agli studi di disseminazione descritti di seguito.

Effetti collaterali sulle funzioni immunitarie. Effettuare saggi idonei sulle funzioni immunitarie nel caso in cui il vaccino possa avere effetti indesiderati sulla risposta immunitaria dell'animale vaccinato o sulla sua progenie.

Effetti collaterali causati da interazioni. Effettuare studi per dimostrare l'assenza di effetti indesiderati sull'innocuità del prodotto quando si raccomanda di somministrarlo contemporaneamente oppure nell'ambito di un programma di somministrazione entro un breve periodo di tempo.

Requisiti particolari per i vaccini vivi. I seguenti saggi di laboratorio devono essere effettuati nel caso di vaccini vivi.

a) *Diffusione del ceppo vaccinale.* La diffusione del ceppo vaccinale dagli animali vaccinati agli animali delle specie bersaglio non vaccinati viene studiata utilizzando la via di somministrazione riconosciuta più idonea per la possibilità di diffusione del ceppo vaccinale. Inoltre, può essere necessario studiare l'innocuità della diffusione del ceppo vaccinale in specie non bersaglio che possono essere altamente recettive al ceppo

vaccinale vivo. Si deve valutare il numero di passaggi che possono verificarsi da animale ad animale in circostanze normali e le possibili conseguenze.

b) *Disseminazione nell'animale vaccinato.* Effettuare saggi su feci, urina, latte, uova, secrezioni orali, nasali ed altre secrezioni per verificare l'eventuale presenza del microrganismo vaccinale. Inoltre, possono essere richiesti studi relativi alla disseminazione del ceppo vaccinale nell'organismo, con particolare attenzione ai principali siti di replicazione del microrganismo. Questi studi sono obbligatori nel caso di vaccini vivi per malattie zoonotiche ben conosciute destinati ad animali da cui si ricavano alimenti.

c) *Aumento della virulenza.* Usare il materiale proveniente dal livello di passaggio che verosimilmente ha la massima virulenza per la specie bersaglio, ed è compreso tra il lotto di semenza primario e il prodotto finito. Gli animali utilizzati sono di un'età appropriata per il recupero del virus e gli animali in tutti i gruppi hanno questa età al momento dell'inoculazione. La prima vaccinazione è effettuata attraverso la via di somministrazione raccomandata che con maggiore probabilità può portare ad un recupero della virulenza. Dopo il primo passaggio, effettuare almeno altri 5 passaggi seriali negli animali delle specie bersaglio. I passaggi sono effettuati attraverso la via di somministrazione raccomandata che con maggiore probabilità può portare ad un recupero della virulenza. Se le proprietà del virus permettono i passaggi successivi nei 5 gruppi per propagazione naturale, può essere utilizzato questo metodo altrimenti si effettua un passaggio così come descritto in ciascuna monografia e una ricerca dell'aumento della virulenza sul virus recuperato al livello di passaggio più elevato. In ciascun passaggio sono utilizzati almeno 2 animali. Ad ogni passaggio viene dimostrata la presenza di microrganismi vivi derivanti dal vaccino nel materiale utilizzato per il passaggio. Confrontare l'innocuità del materiale proveniente dal passaggio più elevato effettuato con successo con quella del materiale che non ha subito alcun passaggio.

Per particolari virus, nel caso in cui i dati disponibili ne dimostrino l'importanza, una monografia può prevedere un numero maggiore di passaggi in un maggior numero di animali. Almeno per il passaggio finale utilizzare gli animali più idonei alla dimostrazione del rischio potenziale da valutare.

d) *Proprietà biologiche del ceppo vaccinale.* Possono essere necessari altri saggi per determinare, nel modo più preciso possibile, le proprietà biologiche intrinseche

del ceppo vaccinale (per es. il neurotropismo). Per i vaccini a base di vettori, valutare il rischio di un eventuale cambiamento del tropismo o della virulenza del ceppo e, se necessario, effettuare saggi specifici. Questi saggi sono effettuati sistematicamente nel caso in cui il prodotto di un gene estraneo è incorporato in un ceppo sotto forma di proteina strutturale.

e) *Ricombinazione o riassortimento genomico del ceppo.* Considerare la probabilità di ricombinazione o di riassortimento genomico tra il ceppo vaccinale ed il ceppo di campo o altri ceppi.

B. STUDI SUL CAMPO

Generalmente, i risultati dei saggi di laboratorio sono integrati con dati di supporto derivati dagli studi condotti sul campo. A patto che i saggi di laboratorio abbiano valutato l'innocuità e l'efficacia di un prodotto in maniera adeguata, nelle condizioni sperimentali che utilizzano i vaccini con titolo o attività rispettivamente massima o minima, può essere utilizzato un lotto unico di prodotto per valutare la sua innocuità e la sua efficacia nelle condizioni di campo. In questo caso può essere utilizzato un lotto di routine rappresentativo, di titolo o attività intermedia.

Nel caso di mammiferi dai quali si ricavano alimenti, gli studi comprendono la misurazione della temperatura corporea di un numero sufficiente di animali, prima e dopo la vaccinazione; per gli altri mammiferi, tali misurazioni sono effettuate nel caso in cui i saggi di laboratorio abbiano indicato la possibilità di eventuali problemi. Registrare l'entità e la persistenza di qualsiasi reazione locale e la percentuale di animali in cui si sono verificate reazioni locali o generali. Se del caso, effettuare misurazioni delle prestazioni funzionali degli animali.

Nel caso di polli da carne, le misure delle prestazioni funzionali comprendono la mortalità settimanale, gli indici di nutrizione, l'età di abbattimento e il peso così come il declassamento e il rifiuto al sito.

Per i vaccini destinati ai volatili allevati per la produzione di uova, effettuare studi sugli effetti del vaccino sull'ovodeposizione e sulla schiusa delle uova.

C. ECOTOSSICITÀ

Effettuare una valutazione dei potenziali effetti nocivi del prodotto sull'ambiente ed identificare tutte le precauzioni necessarie a limitare tali rischi. Valutare il probabile grado di esposizione dell'ambiente al prodotto considerando: le specie bersaglio e le modalità di somministrazione; l'eliminazione del prodotto dall'organismo; le disposizioni per il prodotto non utilizzato. Nel

caso in cui tali fattori indicano che esiste un significativo grado di esposizione dell'ambiente al prodotto, valutare l'ecotossicità potenziale considerando le caratteristiche dello stesso.

5.2.7. VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEI VACCINI E DEI SIERIMMUNI PER USO VETERINARIO

Il termine prodotto utilizzato nel testo definisce sia un vaccino sia un sierimmune.

Durante lo sviluppo di un prodotto, sono effettuati dei saggi per dimostrare la sua efficacia quando somministrato attraverso ciascuna modalità e via di somministrazione raccomandate, utilizzando lo schema raccomandato per gli animali di ciascuna specie e categoria alle quali il prodotto è destinato. Le modalità di determinazione dell'efficacia variano in maniera considerevole a seconda del particolare tipo di prodotto.

I saggi indicati nella sezione Produzione delle monografie possono essere effettuati nell'ambito dei saggi di sviluppo per dimostrare l'efficacia; si deve tenere conto delle considerazioni riportate di seguito.

La dose da utilizzare corrisponde alla quantità di prodotto che viene raccomandata per l'uso e che contiene il titolo minimo o l'attività biologica attesi alla fine del periodo di validità.

Per i vaccini vivi, utilizzare un vaccino contenente i virus/ i batteri al livello di passaggio più attenuato che sarà presente in un lotto di vaccino.

Per i sierimmuni, se appropriato, la dose sottoposta a saggio deve contenere anche una quantità minima di immunoglobina o di gammaglobulina e/o di proteine totali.

Le prove del saggio di efficacia devono confermare tutte le indicazioni dichiarate del prodotto. Ad esempio, le indicazioni circa il conferimento di protezione nei confronti di malattie respiratorie devono essere supportate almeno dalla dimostrazione della protezione nei confronti della sintomatologia clinica dovuta alle malattie respiratorie. Nel caso in cui sia dichiarato il conferimento di protezione nei confronti di un'infezione, questo aspetto deve essere dimostrato mediante tecniche di reisolamento dell'agente responsabile dell'infezione. In caso di più indicazioni del prodotto, sono richieste prove di efficacia per ciascuna indicazione.

Vaccini. Valutare adeguatamente l'influenza sull'efficacia del vaccino degli anticorpi derivanti da immunità passiva e di origine materna. Tutte le indicazioni, dichiarate o implicite, riguardanti l'instaurarsi e la durata della protezione devono essere supportate da dati sperimentali.

Le dichiarazioni relative alla durata dell'immunità devono essere supportate dall'evidenza della protezione. Il modello di saggio descritto in Immunogenicità e/o Attività non è necessariamente utilizzato per supportare le dichiarazioni relative alla durata dell'immunità prodotta dal vaccino.

L'efficacia di ciascun componente di vaccini polivalenti ed associati viene dimostrata utilizzando il vaccino associato.

Sierimmune. Un'attenzione particolare deve essere prestata per fornire i dati per dimostrare l'efficacia dello schema raccomandato. Per esempio, se si raccomanda di somministrare il sierimmune una sola volta per ottenere un effetto profilattico o terapeutico questi effetti devono essere dimostrati. Tutte le indicazioni, dichiarate o implicite, riguardanti l'inizio e la durata della protezione o dell'effetto terapeutico devono essere dimostrate dai dati ottenuti negli studi. Per esempio, deve essere studiata la durata della protezione prodotta da una dose di un sierimmune somministrata a scopo profilattico al fine di poter fornire all'utilizzatore appropriate indicazioni in etichetta.

Effettuare studi relativi alla compatibilità immunologica nei casi in cui sia raccomandata la somministrazione contemporanea di più prodotti o nel caso in cui essa rappresenti una parte di un usuale schema di somministrazione. Quando un prodotto è raccomandato come parte di uno schema di somministrazione si deve dimostrare l'effetto primario o di richiamo del vaccino o il contributo del prodotto all'efficacia dell'intero schema.

SAGGI DI LABORATORIO

In linea di principio, procedere alla dimostrazione dell'efficacia in condizioni di laboratorio ben controllate, mediante somministrazione del prodotto all'animale della specie bersaglio nelle condizioni d'uso raccomandate.

Nei limiti del possibile, le condizioni di esecuzione dell'infezione sperimentale devono riprodurre le condizioni naturali dell'infezione, ad esempio per ciò che concerne la quantità di microrganismo infettante e la via di somministrazione.

Vaccini. Salvo eccezione giustificata, l'infezione sperimentale è effettuata con un ceppo diverso da quello utilizzato per la produzione del vaccino.

Se possibile, determinare il meccanismo immunitario che viene innescato in seguito alla somministrazione del vaccino agli animali bersaglio (immunità cellulo-mediata/umorale, locale/generale, classi di immunoglobuline prodotte).

Sierimmune. I dati sono forniti dalle misure dei livelli di anticorpi ottenuti nelle specie bersaglio dopo somministrazione del prodotto come raccomandato. Se esistono dati pubblicati appropriati, si deve far riferimento ai pertinenti testi pubblicati relativi al livello protettivo di anticorpi e gli studi di infezione sperimentale devono essere evitati.

Se sono necessari studi di infezione sperimentale, essi possono essere fatti prima o dopo la somministrazione del prodotto, in accordo con le indicazioni e le dichiarazioni specifiche riportate.

SPERIMENTAZIONI SUL CAMPO

Generalmente, i risultati dei saggi di laboratorio sono integrati con i dati derivanti da sperimentazioni sul campo effettuate con animali di controllo non trattati. Ammesso che i saggi di laboratorio abbiano valutato la sicurezza e l'efficacia di un prodotto in maniera adeguata, nelle condizioni sperimentali ed utilizzando vaccini con titolo o attività rispettivamente massima e minima, può essere utilizzato un singolo lotto di prodotto per valutare sia la sicurezza che l'efficacia sul campo. In questo caso può essere utilizzato un lotto di routine tipico di titolo o potenza intermedia. Nel caso in cui i saggi di laboratorio non siano in grado di fornire indicazioni a sostegno dell'efficacia, può essere considerata accettabile esclusivamente l'esecuzione delle sperimentazioni sul campo.

5.2.8. MINIMIZZAZIONE DEL RISCHIO DI TRASMETTERE GLI AGENTI DELLE ENCEFALOPATIE SPONGIFORMI ANIMALI TRAMITE I PRODOTTI MEDICINALI PER USO UMANO E VETERINARIO

Questo capitolo è identico alla "Note for Guidance on Minimising the Risk of Transmitting Animal Spongiform Encephalopathy Agents via Human and Veterinary Medicinal Products". Revisione 2 ottobre 2003 [Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP), Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), European Agency for the Evaluation of Medicinal Products].

Si rinvia a questa linea guida.

5.2.9. VALUTAZIONE DELL'INNOCUITÀ DI CIASCUN LOTTO DEI VACCINI E DEI SIERIMMUNI PER USO VETERINARIO

Il termine prodotto utilizzato nel testo definisce sia un vaccino sia un sierimmune.

Definizione di reazioni anormali. Nel corso degli studi di sviluppo, il tipo e il grado delle reazioni attese dopo la somministrazione del prodotto sono definite alla luce degli studi di innocuità. Questa definizione di reazioni locali e sistemiche normali o anormali è utilizzata in seguito nell'ambito dei saggi di innocuità effettuati su ciascun lotto, al fine di valutare le reazioni accettabili e non accettabili.

Quantità da somministrare nel saggio. Nei saggi, il termine "dose" designa la quantità di prodotto raccomandato per l'uso e contenente il titolo o l'attività entro i limiti specificati per i lotti di produzione. La quantità che deve essere somministrata nel saggio è generalmente definita in numero di dosi. Nel caso di vaccini liofilizzati, le 10 dosi sono ricostituite in un volume appropriato per il saggio. Per i prodotti costituiti da un contenitore con uno o più componenti vivi liofilizzati e un contenitore con uno o più componenti inattivati da utilizzare come diluenti, può essere necessario utilizzare altro liquido per la ricostituzione dei componenti liofilizzati. Il contenuto di 2 contenitori del componente inattivato mescolato con il contenuto di un numero massimo di contenitori del componente liofilizzato vivo deve essere iniettato in un sito e il resto dei componenti vivi liofilizzati ricostituiti in un solvente appropriato può essere somministrato in un altro sito separato, se necessario e giustificato. Per i vaccini combinati, i saggi di innocuità effettuati sul vaccino combinato possono essere considerati sufficienti per dimostrare l'innocuità dei singoli componenti.

Via di somministrazione. Somministrare il prodotto secondo una via raccomandata. Per principio è preferibile utilizzare la via di somministrazione più appropriata a permettere la rivelazione delle reazioni.

Quando è noto che vi è un rischio particolare per esempio a seguito degli studi di sviluppo, la seconda somministrazione è effettuata usando una dose appropriata e dopo un intervallo di tempo appropriato determinato durante lo sviluppo.

Specie e categorie di animali bersaglio. Usare gli animali dell'età minima raccomandata per le vaccinazioni e la somministrazione del prodotto e le specie più sensibili, salvo eccezione giustificata ed autorizzata.

Numero di animali. Il numero di animali da utilizzare per il saggio è prescritto nella monografia. Generalmente sono utilizzati 2 animali per i mammiferi e 10 per uccelli e pesci.

Identificazione degli animali. Salvo eccezione giustificata, tutti gli animali sono marcati in un modo appropriato che permette una registrazione individuale dei dati per l'intero periodo di osservazione.

Periodo di osservazione. Quando i criteri obiettivi come la temperatura corporea sono registrati come descritto di seguito, esaminare ed osservare gli animali per almeno tre giorni prima della somministrazione del prodotto. Dopo la somministrazione del prodotto, porre in osservazione ed esaminare gli animali almeno una volta al giorno per almeno 14 giorni per rivelare reazioni locali e sistemiche. Il giorno della somministrazione del prodotto è necessario effettuare almeno una ispezione supplementare dopo 4 h o ad intervalli di tempo specificati nelle monografie. In caso di una seconda somministrazione del prodotto, il periodo di osservazione termina generalmente 14 giorni dopo la seconda somministrazione.

Reazioni locali e sistemiche. Sacrificare gli animali che presentano reazioni locali o sistemiche anormali gravi. Tutti gli animali morti sono sottoposti a un esame di tipo macroscopico. Possono essere indicati esami microscopici e microbiologici complementari.

Osservare ed esaminare gli animali per evidenziare segni di reazioni locali o sistemiche. Registrare altri criteri quando costituiscono indicatori utili riconosciuti, come la temperatura corporea, la massa corporea, altri indici di prestazioni funzionali e l'assorbimento del cibo.

Reazioni locali. Se appropriato e possibile, registrare l'entità e la persistenza di ogni reazione locale (compresa la comparsa di reazioni dolorose) e la percentuale di animali che manifestano le reazioni locali.

Reazioni sistemiche. La temperatura corporea e, se appropriato, la massa corporea sono documentate come indicatori generali degli effetti sistemici della somministrazione del prodotto. Inoltre sono registrati tutti i segni clinici.

Temperatura corporea. Per i mammiferi gli studi comprendono la misura della temperatura corporea durante il periodo di osservazione. La temperatura corporea è registrata a partire da almeno 3 giorni prima della somministrazione del prodotto, al momento della somministrazione, poi dopo 4 h e ad intervalli appropriati. La temperatura corporea prima della somministrazione del prodotto deve essere compresa entro i valori fisiologici. Almeno nel caso di prodotti per i quali è previsto un innalzamento significativo della temperatura corporea (per es. prodotti contenenti endotossine ed alcuni vaccini virali vivi) o per i quali l'innalzamento della temperatura è specificato nella monografia corrispondente (per es. non più di 2 °C per il vaccino dell'actinobacillosi del maiale), si raccomanda di utilizzare la temperatura media dei giorni precedenti la somministrazione del prodotto (per es. dal giorno -3 al giorno 0) come linea di base della temperatura per disporre di un criterio chiaro per la valutazione del saggio.

Massa corporea ed assorbimento del nutrimento. Misurare e documentare la massa corporea poco prima della somministrazione del prodotto e durante il periodo di osservazione quando è noto che essa costituisce un indicatore di innocuità, di affidabilità ed utilità riconosciute, per esempio nel caso di animali giovani o di pesci. Controllare e documentare l'assorbimento del nutrimento come un indicatore della somministrazione del prodotto. Nella maggior parte dei casi sarà suffi-

ciente registrare che la razione giornaliera è stata conservata o parzialmente o interamente rifiutata ma, in alcuni casi, può essere necessario registrare il peso effettivo del nutrimento consumato se si tratta di un indicatore appropriato per l'innocuità del prodotto.

Segni clinici. Registrare tutti i segni clinici di natura generale, attesi o no, in particolare i cambiamenti dello stato di salute e le alterazioni comportamentali.

Schede di valutazione. Preparare le schede di valutazione per ciascun prodotto in funzione dei segni attesi. Registrare tutti i parametri e tutti i dati in queste schede. Le schede di valutazione contengono parametri generali ma devono essere ugualmente adattate a ciascun tipo di prodotto e contenere la lista dei segni clinici che possono essere evidenti per il prodotto in questione.

Criteri di ripetizione del saggio. Se si verifica un segno anormale, il veterinario responsabile determina se questo segno è dovuto al prodotto, sulla base dell'esame necroscopico se necessario. Se la causa di questo segno anormale non è chiara o se un animale è ritirato dal saggio per motivi che non dipendono dal prodotto, il saggio può essere ripetuto. Se nel secondo saggio si verifica lo stesso segno anormale il prodotto non soddisfa al saggio. Registrare ogni trattamento somministrato all'animale durante il periodo di osservazione. Se il trattamento può interferire con il saggio, il saggio non è valido.

5.4. Solventi residui

5.4.	Solventi residui	733
------	----------------------------	-----

5.4. SOLVENTI RESIDUI

LIMITI DEI SOLVENTI RESIDUI NELLE SOSTANZE ATTIVE, NEGLI ECCIPIENTI E NEI PRODOTTI MEDICINALI

La Conferenza Internazionale per l'Armonizzazione dei Requisiti Tecnici per la Registrazione dei prodotti Farmaceutici per Uso Umano (ICH - *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*) ha adottato la Linea Guida delle Impurezze per i Solventi Residui che prescrive i limiti per il contenuto dei solventi che possono rimanere nelle sostanze attive, negli eccipienti e nei prodotti medicinali dopo la fabbricazione. Questa linea guida, il cui testo è riportato di seguito, esclude i prodotti esistenti in commercio. La Farmacopea, comunque, applica gli stessi principi enunciati nella linea guida alle sostanze attive esistenti, agli eccipienti e ai prodotti medicinali, siano essi oggetto o meno di una monografia di Farmacopea. Tutte le sostanze e i prodotti devono essere esaminati per evidenziare l'eventuale presenza di solventi che probabilmente possono essere presenti in una sostanza o in un prodotto.

Se i limiti da applicare soddisfano quelli riportati di seguito, i saggi per i solventi residui non sono generalmente menzionati nelle monografie specifiche poiché i solventi utilizzati possono variare da un produttore all'altro e i requisiti del capitolo generale si applicano con il rispetto della monografia generale sulle "Sostanze per uso farmaceutico (2034)". L'autorità competente deve essere informata dei solventi utilizzati durante il processo di produzione.

Questa informazione deve anche essere riportata nel dossier presentato per ottenere un certificato di conformità (*certificate of suitability*) alle monografie della Farmacopea Europea ed è menzionata nel certificato stesso.

Se sono utilizzati solo dei solventi di Classe 3, può essere applicato un saggio per la perdita di peso all'essiccamento o può essere eseguita una determinazione specifica del solvente. Se un solvente di Classe 3 ha un limite, giustificato e autorizzato, superiore allo 0,5 per cento, è richiesta una determinazione specifica del solvente in questione.

Nel caso siano utilizzati solventi residui di Classe 1 o di Classe 2 (o solventi residui di Classe 3 in quantità superiore allo 0,5 per cento) deve essere applicata, dove pos-

sibile, la metodologia descritta nel metodo generale (2.4.24). In caso contrario deve essere utilizzato un appropriato metodo convalidato.

Nel caso in cui venga eseguita una determinazione quantitativa di un solvente residuo, il risultato è preso in considerazione per il calcolo del contenuto della sostanza tranne quando viene eseguito un saggio per l'essiccamento.

IMPUREZZE: LINEE GUIDA PER I SOLVENTI RESIDUI (CPMP/ICH/283/95)

1. INTRODUZIONE
2. SCOPO DELLA LINEA GUIDA
3. PRINCIPI GENERALI
 - 3.1. CLASSIFICAZIONE DEI SOLVENTI RESIDUI IN FUNZIONE DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO
 - 3.2. METODI PER STABILIRE I LIMITI DI ESPOSIZIONE
 - 3.3. OPZIONI PER STABILIRE I LIMITI DEI SOLVENTI DI CLASSE 2
 - 3.4. PROCEDURE ANALITICHE
 - 3.5. DICHIARAZIONE DI CONFORMITÀ DEI LIMITI DEI SOLVENTI RESIDUI
4. LIMITI DEI SOLVENTI RESIDUI
 - 4.1. SOLVENTI DA EVITARE
 - 4.2. SOLVENTI DA LIMITARE
 - 4.3. SOLVENTI CON POTENZIALE TOSSICO BASSO
 - 4.4. SOLVENTI PER I QUALI NON SONO STATI TROVATI DATI TOSSICOLOGICI ADEGUATI

GLOSSARIO

APPENDICE 1. LISTA DEI SOLVENTI INCLUSI NELLA LINEA GUIDA

APPENDICE 2. INFORMAZIONI SUPPLEMENTARI

A2.1: LEGISLAZIONE AMBIENTALE DEI SOLVENTI ORGANICI VOLATILI

A2.2: SOLVENTI RESIDUI NEI PRODOTTI FARMACEUTICI

APPENDICE 3. METODI PER LA DEFINIZIONE DEI LIMITI DI ESPOSIZIONE

1. INTRODUZIONE

L'obiettivo di questa linea guida è quello di raccomandare le quantità di solventi residui considerate accettabili, nei prodotti farmaceutici, per la sicurezza del paziente. La linea guida raccomanda l'uso di solventi meno tossici e indica, per alcuni solventi residui, i livelli che sono considerati tossicologicamente accettabili.

I solventi residui nei prodotti farmaceutici sono definiti in questo contesto, come composti chimici, organici volatili utilizzati o prodotti nella fabbricazione di sostanze attive o di eccipienti, o impiegati nella preparazione dei prodotti medicinali. Le tecniche di fabbricazione attuali non consentono di rimuovere completamente i solventi. Una scelta appropriata del solvente per la sintesi della sostanza attiva può aumentarne la resa o determinare caratteristiche come la forma cristallina, la purezza e la solubilità. Quindi, in alcuni casi, il solvente può essere un parametro critico nel processo di sintesi. Questa linea guida non riguarda i solventi deliberatamente usati come eccipienti o i solventi. Comunque il contenuto dei solventi in tali prodotti dovrebbe essere valutato e giustificato.

Poiché i solventi residui non presentano benefici terapeutici, tutti i solventi residui dovrebbero essere rimossi il più possibile per soddisfare le specifiche del prodotto, le Norme di Buona Fabbricazione, o altri requisiti di qualità. I prodotti medicinali non devono contenere livelli di solventi residui più alti di quelli supportati da dati di sicurezza. Alcuni solventi a causa della loro tossicità inaccettabile (Classe 1, Tabella 1) non devono essere utilizzati nella produzione delle sostanze attive, degli eccipienti, o dei prodotti medicinali a meno che il loro uso possa essere giustificato in modo soddisfacente in una valutazione del rapporto rischio-beneficio.

L'uso di alcuni solventi con tossicità meno severa (Classe 2, Tabella 2) deve essere limitato per proteggere i pazienti da potenziali effetti collaterali. Idealmente, devono essere usati i solventi meno tossici (Classe 3, Tabella 3), quando possibile. La lista completa dei solventi presenti in questa linea guida è riportata nell'Appendice 1.

Le liste presenti in questo documento non sono esaustive e si possono usare altri solventi che vengono, in seguito, aggiunti alle liste. I limiti raccomandati per i solventi della Classe 1 e 2 o la classificazione dei solventi possono variare in funzione di nuovi dati di sicurezza disponibili. I dati di sicurezza, forniti in una richiesta di autorizzazione all'immissione in com-

mercio di un nuovo prodotto medicinale contenente un nuovo solvente, possono essere basati sui concetti di questa linea guida o sul concetto di qualificazione delle impurezze, come espresso nella linea guida per le sostanze attive (Q3A, Impurezze nelle Nuove Sostanze Attive) o per il prodotto medicinale (Q3B, Impurezze nei Nuovi Prodotti Medicinali) o in tutte e tre le linee guida.

2. SCOPO DELLA LINEA GUIDA

I solventi residui nelle sostanze attive, negli eccipienti e nei prodotti medicinali rientrano nello scopo di questa linea guida. Quindi, si deve effettuare il saggio per i solventi residui ogni volta che è noto che il processo di produzione o di purificazione comporta la presenza di tali solventi. E' necessario eseguire la ricerca solamente per i solventi che sono usati o prodotti nel corso del processo di fabbricazione o purificazione delle sostanze attive, degli eccipienti o dei prodotti medicinali. Anche se i produttori possono scegliere di sottoporre a saggio il prodotto medicinale, si può utilizzare un metodo cumulativo che permette di calcolare i livelli di solvente residuo nel prodotto medicinale a partire dai livelli presenti negli ingredienti usati per produrre il prodotto medicinale stesso. Se il calcolo dà un risultato inferiore o uguale al livello raccomandato in questa linea guida, non è richiesto alcun saggio per i solventi residui sul prodotto medicinale. Se invece il livello calcolato è superiore a quello raccomandato, il prodotto medicinale deve essere sottoposto a saggio per accertare che il processo di formulazione abbia ridotto il livello del solvente a valori accettabili. Il prodotto medicinale deve essere sottoposto a saggio quando durante la sua produzione si utilizza un solvente.

Questa linea guida non si applica alle potenziali nuove sostanze attive, agli eccipienti o ai prodotti medicinali usati durante le fasi di ricerca clinica nel corso dello sviluppo del prodotto, e non si applica ai prodotti medicinali già in commercio.

La linea guida si applica a tutte le forme farmaceutiche e a tutte le vie di somministrazione. In alcuni casi possono essere accettabili livelli più elevati di solventi residui come, per esempio, nei trattamenti a breve termine (30 giorni o meno) o per l'applicazione topica. Questi livelli devono essere giustificati caso per caso.

Vedere l'Appendice 2 per le ulteriori informazioni relative ai solventi residui.

3. PRINCIPI GENERALI

3.1. CLASSIFICAZIONE DEI SOLVENTI RESIDUI IN FUNZIONE DELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

L'*International Program on Chemical Safety (IPCS)* utilizza l'espressione "dose giornaliera tollerabile (DGT; "TDI = *tollerable daily intake*") per descrivere i limiti di esposizione ai prodotti chimici tossici. Per lo stesso concetto l'Organizzazione Mondiale della Sanità, ed altre Autorità sanitarie ed istituti (nazionali ed internazionali), utilizzano l'espressione "dose giornaliera accettabile" (DGA; "ADI = *acceptable daily intake*") In questa linea guida è definita la nuova espressione "esposizione giornaliera permessa" (EGP; "PDE = *permitted daily exposure*") che fa riferimento alla dose di solvente residuo accettabile dal punto di vista dell'uso farmaceutico, per evitare ogni confusione tra i differenti valori di DGA per una stessa sostanza.

I solventi residui valutati in questa linea guida sono riportati nell'Appendice 1 con i nomi comuni e la struttura. Essi sono valutati per il loro possibile rischio per la salute umana e inseriti in una delle tre seguenti classi:

Solventi di Classe 1: Solventi che devono essere evitati

Agenti cancerogeni noti o fortemente sospetti di esserlo per l'uomo e agenti dannosi per l'ambiente.

Solventi di Classe 2: Solventi che devono essere limitati

Cancerogeni non-genotossici per gli animali o possibili agenti causali di altri effetti tossici irreversibili come neurotossicità o teratogenicità.

Solventi sospetti di essere all'origine di altri effetti tossici importanti ma reversibili.

Solventi di Classe 3: Solventi con bassa tossicità potenziale

Solventi con bassa tossicità potenziale per l'uomo; non sono necessari limiti di esposizione. I solventi di Classe 3 hanno un valore di EGP uguale o superiore a 50 mg.

3.2. METODI PER STABILIRE I LIMITI DI ESPOSIZIONE

Il metodo usato per stabilire l'esposizione giornaliera permessa per i solventi residui è riportato nell'Appendice 3. I sommari dei dati di tossicità che sono stati usati per stabilire i limiti sono stati pubblicati in *Pharmeuropa, Vol. 9, No. 1, Supplemento, Aprile 1997*.

3.3. OPZIONI PER DESCRIVERE I LIMITI DEI SOLVENTI DI CLASSE 2

Sono disponibili due opzioni che permettono di definire i limiti per i solventi di Classe 2.

Opzione 1: si possono usare i limiti di concentrazione, in ppm, indicati nella Tabella 2. Questi limiti sono stati calcolati usando l'equazione (1) riportata di seguito, considerando una massa di prodotto di 10 g somministrata giornalmente.

$$\text{Concentrazione (ppm)} = \frac{1000 \times \text{EGP}}{\text{dose}} \quad (1)$$

In questo caso il valore di EGP è riportato in termini di mg/giorno e la dose è indicata in g/giorno.

Questi limiti sono considerati accettabili per tutte le sostanze, gli eccipienti o i prodotti medicinali. Questa opzione può essere, quindi, applicata se la dose giornaliera non è nota o definita. Se tutti gli eccipienti e le sostanze attive di una formulazione soddisfano i limiti dell'Opzione 1, questi componenti possono essere usati in ogni proporzione. Non sono necessari ulteriori calcoli purché la dose giornaliera non superi i 10 g. I prodotti che sono somministrati in dosi superiori a 10 g per giorno devono essere considerati nell'Opzione 2.

Opzione 2: per ciascun componente del prodotto medicinale non è considerato necessario soddisfare ai limiti indicati nell'Opzione 1. Il valore di EGP, in termini di mg/giorno come indicato nella Tabella 2, può essere impiegato, assieme alla dose massima giornaliera nota e all'equazione (1) menzionata precedentemente, per determinare la concentrazione di solvente residuo autorizzata in un prodotto medicinale. Questi limiti sono

considerati accettabili purché sia stato dimostrato che il solvente residuo è stato ridotto al minimo possibile. I limiti devono essere realistici, in relazione alla precisione analitica, alla idoneità della produzione, a variazioni ragionevoli nel processo di produzione ed i limiti dovrebbero riflettere i reali standard di produzione.

L'Opzione 2 può essere applicata sommando le quantità di un solvente residuo presente in ciascuno dei componenti del prodotto medicinale. La somma delle quantità del solvente per giorno deve essere inferiore a quella indicata per l'EGP.

A titolo di esempio si consideri l'applicazione dell'Opzione 1 e dell'Opzione 2 all'acetone nitrile contenuto in un prodotto medicinale. L'esposizione giornaliera permessa per l'acetone nitrile è di 4,1 mg per giorno; di conseguenza il limite previsto dall'Opzione 1 è di 410 ppm. La quantità giornaliera massima somministrata di un prodotto medicinale è di 5,0 g, e questo prodotto medicinale contiene due eccipienti. La composizione del prodotto medicinale e il calcolo del contenuto massimo di acetone nitrile residuo sono riportati nella tabella seguente:

Componente	Quantità nella formulazione	Contenuto di acetone nitrile	Esposizione giornaliera
Sostanza attiva	0,3 g	800 ppm	0,24 mg
Eccipiente 1	0,9 g	400 ppm	0,36 mg
Eccipiente 2	3,8 g	800 ppm	3,04 mg
Prodotto medicinale	5,0 g	728 ppm	3,64 mg

L'eccipiente 1 soddisfa il limite dell'Opzione 1, ma la sostanza attiva, l'eccipiente 2 e il prodotto medicinale non soddisfano il limite dell'Opzione 1. Tuttavia, il prodotto soddisfa il limite dell'Opzione 2 (4,1 mg per giorno) e, quindi, soddisfa alle raccomandazioni riportate in questa linea guida.

Si consideri un altro esempio in cui è presente l'acetone nitrile come solvente residuo. La quantità giornaliera massima somministrata di un prodotto medicinale è 5,0 g ed il prodotto medicinale contiene due eccipienti.

La composizione del prodotto medicinale ed il contenuto massimo calcolato per l'acetone nitrile residuo è riportato nella tabella seguente:

Componente	Quantità nella formulazione	Contenuto di acetone nitrile	Esposizione giornaliera
Sostanza attiva	0,3 g	800 ppm	0,24 mg
Eccipiente 1	0,9 g	2000 ppm	1,80 mg
Eccipiente 2	3,8 g	800 ppm	3,04 mg
Prodotto medicinale	5,0 g	1016 ppm	5,08 mg

In questo esempio, dalla somma del contenuto di ciascun costituente risulta che il prodotto non soddisfa né il limite dell'Opzione 1, né il limite dell'Opzione 2. Il produttore potrebbe esaminare il prodotto medicinale per determinare se il processo di produzione ha ridotto il livello di acetone nitrile. Se il livello di acetone nitrile non è stato ridotto nel corso della fabbricazione al limite permesso, il fabbricante del prodotto medicinale dovrà prendere in considerazione altre misure per ridurre il livello di acetone nitrile contenuto nel prodotto medicinale. Se tutte queste operazioni non consentono di ridurre il livello del solvente residuo, in casi eccezionali il produttore può fornire un sommario delle misure prese per ridurre il livello del solvente fino al valore previsto dalla linea guida e fornire un'analisi del rapporto rischio-beneficio per supportare l'utilizzazione del prodotto medicinale con un contenuto di solvente residuo più alto del limite autorizzato.

3.4. PROCEDURE ANALITICHE

Il contenuto di solventi residui è generalmente determinato usando tecniche cromatografiche come la gas cromatografia. Per determinare il contenuto dei solventi residui dovrebbero essere usate, se possibile, le procedure armonizzate descritte nelle farmacopee. Se questo non è possibile, i produttori sono liberi di selezionare la procedura analitica convalidata più appropriata per la particolare applicazione. Se sono presenti solo i solventi di Classe 3, si può usare un metodo non specifico come quello della perdita all'essiccamento.

La convalida del metodo utilizzato per la determinazione del contenuto dei solventi residui deve essere conforme alle linee della guida ICH «*Text on Validation of Analytical Procedures*» e «*Extension of the ICH text on Validation of Analytical Procedures*»

3.5. DICHIARAZIONE DI CONFORMITÀ DEI LIVELLI DEI SOLVENTI RESIDUI

I fabbricanti di prodotti farmaceutici hanno la necessità di avere alcune informazioni riguardo il contenuto dei solventi residui negli eccipienti o nelle sostanze attive al fine di soddisfare i criteri di questa linea guida. Si riportano di seguito, a titolo di esempio, le informazioni che un fabbricante di eccipienti, o di principi attivi, può fornire ad un fabbricante di prodotti farmaceutici. A seconda dei casi si può scegliere una delle seguenti dichiarazioni:

- Possono essere presenti solo solventi della Classe 3. Perdita all'essiccamento inferiore allo 0,5 per cento.
- Possono essere presenti solo i solventi X, Y, della Classe 2. I contenuti sono tutti inferiori al limite previsto dall'Opzione 1 (Se del caso il fornitore indicherà il nome dei solventi di Classe 2 rappresentati da X, Y, ...).
- Possono essere presenti solo i solventi X, Y, ... della Classe 2 e solventi della Classe 3. Il contenuto dei solventi residui della Classe 2 è inferiore al limite previsto dall'Opzione 1 e i solventi residui della Classe 3 sono inferiori allo 0,5 per cento.

Se sono presenti solventi della Classe 1, essi devono essere identificati e quantificati. Il termine «possono essere presenti» si riferisce al solvente usato nella fase finale di produzione ed ai solventi che sono usati nelle prime fasi della produzione e che non sono stati eliminati sistematicamente mediante un processo convalidato.

Se sono presenti solventi della Classe 2 o della Classe 3 con un contenuto superiore al limite previsto dall'Opzione 1 o allo 0,5 per cento, rispettivamente, essi devono essere identificati e quantificati.

4. LIMITI DEI SOLVENTI RESIDUI

4.1. SOLVENTI DA EVITARE

I solventi nella Classe 1 non devono essere utilizzati nella produzione di sostanze attive, di eccipienti, e di prodotti medicinali a causa della loro inaccettabile tossicità o del loro effetto dannoso per l'ambiente. Comunque, se il loro uso è inevitabile per produrre un prodotto medicinale con una innovatività terapeutica significativa, il loro contenuto deve essere limitato come riportato nella Tabella 1, se non diversamente giustificato. L'1,1,1-Tricloroetano è compreso nella Tabella 1 perché dannoso per l'ambiente. Il limite indicato di 1500 ppm è basato sulla valutazione dei dati di sicurezza.

Tabella 1. - Solventi di classe 1 nei prodotti farmaceutici (solventi da evitare)

Solvente	Limite di concentrazione (ppm)	Rischio
Benzene	2	Cancerogeno
Carbonio tetracloruro	4	Tossico e dannoso per l'ambiente
1,2-Dicloroetano	5	Tossico
1,1-Dicloroetene	8	Tossico
1,1,1-Tricloroetano	1500	Dannoso per l'ambiente

4.2. SOLVENTI DA LIMITARE

La presenza di solventi della Tabella 2 deve essere limitata nei prodotti farmaceutici a causa della loro intrinseca tossicità. I valori della EGP e delle concentrazioni sono indicati il più possibile prossimi, rispettivamente, a 0,1 mg/giorno ed a 10 ppm. I valori indicati non riflettono necessariamente la precisione analitica della loro determinazione. La precisione deve essere determinata come parte della convalida del metodo.

Tabella 2. - Solventi di classe 2 nei prodotti farmaceutici

Solvente	EGP (mg/giorno)	Limite di concentrazione (ppm)
Acetonitrile	4,1	410
Clorobenzene	3,6	360
Cloroformio	0,6	60
Cicloesano	38,8	3880
1,2-Dicloroetene	18,7	1870
Diclorometano	6,0	600
1,2-Dimetossietano	1,0	100
N,N-Dimetilacetammide	10,9	1090
N,N-Dimetilformammide	8,8	880
1,4-Diossano	3,8	380
2-Etossietanolo	1,6	160
Etilenglicole	6,2	620
Formammide	2,2	220
Esano	2,9	290
Metanolo	30,0	3000
2-Metossietanolo	0,5	50
Metilbutilchetone	0,5	50
Metilcicloesano	11,8	1180
N-Metilpirrolidone	5,3	530
Nitrometano	0,5	50
Piridina	2,0	200
Sulfolano	1,6	160
Tetraidrofurano	7,2	720
Tetralina	1,0	100
Toluene	8,9	890
1,1,2-Tricloroetene	0,8	80
Xilene*	21,7	2170

* generalmente il 60 per cento *m*-xilene, il 14 per cento *p*-xilene, il 9 per cento *o*-xilene con il 17 per cento di etilbenzene.

4.3. SOLVENTI CON BASSA TOSSICITÀ POTENZIALE

I solventi della Classe 3 (riportati nella Tabella 3) possono essere considerati come meno tossici e con minore rischio per la salute umana. La Classe 3 comprende solventi che si considerano non a rischio per la salute umana quando presenti ai livelli normalmente accettati per i prodotti farmaceutici. Tuttavia, non esistono studi di tossicità a lungo termine o di cancerogenicità per molti dei solventi della Classe 3. I dati disponibili indicano che essi sono meno tossici negli studi acuti o a breve termine e che gli studi di genotossicità sono negativi. Il limite ammesso, senza ulteriori giustificazioni, per i solventi di questa classe è inferiore o uguale a 50 mg/giorno (corrispondente a 5000 ppm o allo 0,5 per cento nell'Opzione 1). Possono essere tollerate anche quantità superiori purché siano realistiche in rapporto alla idoneità della produzione e alle norme di buona fabbricazione.

Tabella 3. - *Solventi della classe 3 che devono essere limitati per le Norme di Buona Fabbricazione o per altri requisiti basati sulla qualità*

Acido acetico	Eptano
Acetone	Isobutile acetato
Anisolo	Isopropile acetato
1-Butanolo	Metile acetato
2-Butanolo	3-Metil-1-butanolo
Butile acetato	Metiletilchetone
<i>tert</i> -Butil-metiletere	Isobutilmetilchetone
Cumene	2-Metil-1-propanolo
Dimetilsolfossido	Pentano
Etanolo	1-Pentanolo
Etile acetato	1-Propanolo
Etere	2-Propanolo
Etile formiato	Propile acetato
Acido formico	

4.4. SOLVENTI PER I QUALI NON SONO DISPONIBILI DATI TOSSICOLOGICI SUFFICIENTI

Anche i seguenti solventi (Tabella 4) possono essere di interesse per i produttori di eccipienti, di sostanze attive, o di prodotti medicinali. Tuttavia, non sono disponibili sufficienti dati tossicologici su cui basare la EGP. I produttori devono giustificare i livelli residui di questi solventi nei prodotti farmaceutici.

Tabella 4. - *Solventi per i quali non sono disponibili sufficienti dati tossicologici*

1,1-Dietossipropano	Metilisopropilchetone
1,1-Dimetossimetano	Metiltetraidrofurano
2,2-Dimetossipropano	Etere di petrolio
Isotano	Acido tricloroacetico
Isopropiltere	Acido trifluoroacetico

GLOSSARIO

Cancerogeni genotossici: cancerogeni che provocano il cancro alterando i geni o i cromosomi.

LOEL: abbreviazione di «*lowest-observed effect level*».

«*Lowest-observed effect level*»: la dose più bassa della sostanza che, in uno studio o in un gruppo di studi, produce aumenti significativi, dal punto di vista biologico, della frequenza o della gravità di un qualunque effetto nell'uomo o nell'animale.

Fattore di modificazione: un fattore determinato mediante la valutazione professionale di un tossicologo e applicato ai dati di un dosaggio biologico al fine di correlare, in condizioni di sicurezza, i dati nell'uomo.

Neurotossicità: la capacità di una sostanza di causare effetti indesiderati sul sistema nervoso.

NOEL: abbreviazione di «*no-observed-effect level*».

«*No-observed-effect level*»: la dose più alta della sostanza per la quale non si constata aumento significativo, dal punto di vista biologico, della frequenza o della gravità di un qualunque effetto nell'uomo o nell'animale.

PDE: abbreviazione di «*permitted daily exposure*».

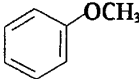


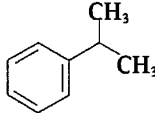

«*Permitted daily exposure*»: la quantità massima permessa per giorno di solvente residuo nei prodotti farmaceutici.

Tossicità reversibile: scomparsa, dopo la sospensione della somministrazione, degli effetti nocivi che sono stati causati, inizialmente, da una sostanza.


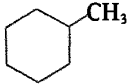
Cancerogeno fortemente sospetto per l'uomo: una sostanza per la quale non c'è evidenza epidemiologica di cancerogenesi ma esistono dati positivi di genotossicità e chiara evidenza di cancerogenesi nei roditori.

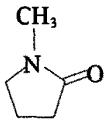



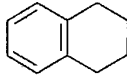
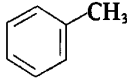
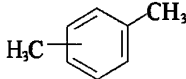
Teratogenicità: la comparsa di malformazioni strutturali durante lo sviluppo fetale quando una sostanza è somministrata durante la gravidanza.

APPENDICE 1. LISTA DEI SOLVENTI INCLUSI NELLA LINEA GUIDA

Solvente	Altri nomi	Struttura	Classe
Acido acetico	Acido etanoico	CH_3COOH	Classe 3
Acetone	2-Propanone Propan-2-one	CH_3COCH_3	Classe 3
Acetonitrile		CH_3CN	Classe 2
Anisolo	Metossibenzene		Classe 3
Benzene	Benzolo		Classe 1
1-Butanolo	Alcool <i>n</i> -Butilico Butan-1-olo	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$	Classe 3
2-Butanolo	Alcool <i>sec</i> -Butilico Butan-2-olo	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$	Classe 3
Butile acetato	Esteri butilico dell'acido acetico	$\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	Classe 3
<i>tert</i> -Butilmetiletere	2-Metossi-2-metilpropano	$(\text{CH}_3)_3\text{COCH}_3$	Classe 3
Carbonio tetracloruro	Tetraclorometano	CCl_4	Classe 1
Clorobenzene			Classe 2
Cloroformio	Triclorometano	CHCl_3	Classe 2
Cumene	Isopropilbenzene (1-Metiletil)benzene		Classe 3
Cicloesano	Esametilene		Classe 2
1,2-Dicloroetano	<i>sym</i> -Dicloroetano Etilene dicloruro Etilene cloruro	$\text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl}$	Classe 1
1,1-Dicloroetene	1,1-Dicloroetilene Vinilidene cloruro	$\text{H}_2\text{C}=\text{CCl}_2$	Classe 1
1,2-Dicloroetene	1,2-Dicloroetilene Acetilene dicloruro	$\text{ClHC}=\text{CHCl}$	Classe 2
Diclorometano	Metilene cloruro	CH_2Cl_2	Classe 2
1,2-Dimetossietano	Etilenglicole dimetil etere Monoglima Dimetil cellosolve	$\text{H}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$	Classe 2
<i>N,N</i> -Dimetilacetammide	DMA	$\text{CH}_3\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	Classe 2
<i>N,N</i> -Dimetilformammide	DMF	$\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$	Classe 2

Solventi residui

Solvente	Altri nomi	Struttura	Classe
Dimetilsolfossido	Metilsolfinilmetano Metilsolfossido DMSO	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	Classe 3
1,4-Diossano	<i>p</i> -Diossano [1,4]Diossano		Classe 2
Etanolo	Alcool etilico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Classe 3
2-Etossietanolo	Cellosolve	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	Classe 2
Etile acetato	Esteri etilico dell'acido acetico	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	Classe 3
Etilenglicole	1,2-Diidrossietano 1,2-Etandiolo	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	Classe 2
Etiletere	Dietiletere Etossietano 1,1'-Ossibisetano	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$	Classe 3
Etile formiato	Esteri etilico dell'acido formico	$\text{HCOOCH}_2\text{CH}_3$	Classe 3
Formammide	Metanammide	HCONH_2	Classe 2
Acido formico		HCOOH	Classe 3
Eptano	<i>n</i> -Eptano	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$	Classe 3
Esano	<i>n</i> -Esano	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	Classe 2
Isobutile acetato	Esteri isobutilico dell'acido acetico	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Classe 3
Isopropile acetato	Esteri isopropilico dell'acido acetico	$\text{CH}_3\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$	Classe 3
Metanolo	Alcool metilico	CH_3OH	Classe 2
2-Metossietanolo	Metile cellosolve	$\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	Classe 2
Metile acetato	Esteri metilico dell'acido acetico	$\text{CH}_3\text{COOCH}_3$	Classe 3
3-Metil-1-butanol	Alcool isoamilico Alcool isopentilico 3-Metilbutan-1-olo	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	Classe 3
Metilbutilchetone	2-Esanone Esan-2-one	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COCH}_3$	Classe 2
Metilcicloesano	Cicloesilmetano		Classe 2
Metiletilchetone	2-Butanone MEK Butan-2-one	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_3$	Classe 3
Metilisobutilchetone	4-Metilpentan-2-one 4-Metil-2-pentanone MIBK	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Classe 3
2-Metil-1-propanolo	Alcool isobutilico 2-Metilpropan-1-olo	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OH}$	Classe 3

Solvente	Altri nomi	Struttura	Classe
<i>N</i> -Metilpirrolidone	1-Metilpirrolidin-2-one 1-Metil-2-pirrolidinone		Classe 2
Nitrometano		CH_3NO_2	Classe 2
Pentano	<i>n</i> -Pentano	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	Classe 3
1-Pentanol	Alcool amilico Pentan-1-olo Alcool pentilico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$	Classe 3
1-Propanolo	Propan-1-olo Alcool propilico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	Classe 3
2-Propanolo	Propan-2-olo Alcool isopropilico	$(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$	Classe 3
Propil acetato	Estere propilico dell'acido acetico	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	Classe 3
Piridina			Classe 2
Sulfonano	Tetraidrotiofene 1,1-diossido		Classe 2
Tetraidrofurano	Tetrametilene ossido Oxaciclopentano		Classe 2
Tetralina	1,2,3,4-Tetraidronaftalene		Classe 2
Toluene	Metilbenzene		Classe 2
1,1,1-Tricloroetano	Metilcloroformio	CH_3CCl_3	Classe 1
1,1,2-Tricloroetene	Tricloroetene	$\text{HC}=\text{CCl}_2$	Classe 2
Xilene*	Dimetilbenzene Xilolo		Classe 2

* generalmente il 60 per cento di *m*-xilene, il 14 per cento di *p*-xilene, il 9 per cento di *o*-xilene con il 17 per cento di etil benzene.

APPENDICE 2. INFORMAZIONI SUPPLEMENTARI

A2.1. LEGISLAZIONE AMBIENTALE DEI SOLVENTI ORGANICI VOLATILI

Alcuni dei solventi residui frequentemente usati nella produzione dei prodotti farmaceutici sono considerati come sostanze tossiche nelle monografie dei *Environmental Health Criteria* (EHC) e nel *Integrated Risk Information System* (IRIS). Gli obiettivi di organismi come l'*International Program on Chemical Safety* (IPCS), l'*United States Environmental Protection Agency* (USEPA) e l'*United States Food and Drug Administration* (USFDA) prevedono la determinazione dei livelli di esposizione accettabile. L'obiettivo è quello di proteggere la salute pubblica e di preservare l'ambiente da possibili effetti nocivi derivanti da una sua esposizione, per tempi lunghi, a queste sostanze. I metodi coinvolti nella valutazione dei limiti di esposizione massima senza effetti nocivi sono generalmente basati su studi a lungo termine. Se i dati degli studi a lungo termine non sono disponibili, si possono usare dati ottenuti da studi a breve termine purché vengano modificati alcuni parametri, come per esempio l'uso di fattori di sicurezza più grandi. L'approccio descritto di seguito si basa soprattutto su una esposizione a lungo termine o esposizione della popolazione durante l'arco della vita nell'ambiente circostante, cioè all'aria, al cibo, all'acqua potabile e ad altro.

A2.2. SOLVENTI RESIDUI NEI FARMACI

I limiti di esposizione riportati in questa linea guida sono stati stabiliti facendo riferimento alle metodologie e ai dati tossicologici descritti nelle monografie EHC e IRIS. Comunque, nella definizione dei limiti di esposizione, devono essere considerate alcune assunzioni specifiche riguardanti i solventi residui da usare nelle sintesi e nella formulazione dei prodotti farmaceutici. Esse sono:

- 1) I pazienti (non la popolazione in senso generale) usano farmaci allo scopo di curare malattie o per la profilassi di infezioni o malattie.
- 2) Per la maggior parte dei prodotti farmaceutici il principio di una esposizione a vita del paziente non è necessario, ma può essere appropriato, come ipotesi di lavoro, per ridurre il rischio per la salute umana.
- 3) I solventi residui sono componenti inevitabili nella fabbricazione di un prodotto farmaceutico e sono spesso parte integrante dei prodotti medicinali.
- 4) Il contenuto dei solventi residui non deve superare i livelli raccomandati, ad eccezione di casi particolari.

5) I risultati degli studi tossicologici utilizzati per determinare i livelli accettabili per i solventi residui devono essere ottenuti da protocolli sperimentali adatti, come quelli descritti, per esempio, dall'OECD e dal "*Red Book*" della FDA.

APPENDICE 3. METODI PER STABILIRE I LIMITI DI ESPOSIZIONE

Il metodo Gaylor-Kodell per la valutazione del rischio (Gaylor, D. W. e Kodell, R. L. Linear Interpolation algorithm for low dose assessment of toxic substance, *J. Environ. Pathology*, 4, 305, 1980) è adatto per i solventi cancerogeni della Classe 1. Nella definizione dei limiti di esposizione, solo dati affidabili di cancerogenicità possono giustificare un'estrapolazione mediante l'applicazione di modelli matematici. I limiti di esposizione per i solventi della Classe 1 possono essere determinati usando un fattore di sicurezza ampio (per es. da 10000 a 100000) e i dati di no-observed effect level (NOEL). La rivelazione e la determinazione quantitativa di questi solventi deve rispondere agli ultimi sviluppi in materia di tecniche analitiche.

I livelli di esposizione accettabili riportati in questa linea guida per i solventi della Classe 2, sono stati stabiliti mediante il calcolo dei valori EGP usando le procedure che permettono di definire i limiti di esposizione applicabili ai prodotti farmaceutici (*Pharmacopoeial Forum, Nov-Dic 1989*), e il metodo adottato dall'IPCS per la valutazione del rischio correlato alle sostanze chimiche (*Assessing Human Health Risk of Chemicals - Environmental Health Criteria 170, WHO, 1994*). Questi metodi sono simili a quelli usati dall'USEPA (IRIS), dall'USFDA (*Red Book*) e altri organismi. Il metodo è qui riportato per una migliore comprensione dell'origine dei valori di EGP. Non è necessario eseguire questi calcoli per usare i valori EGP riportati nella Sezione 4 di questo documento.

L'EGP è calcolato a partire dal no-observed effect level (NOEL) o dal lowest-observed effect level (LOEL), ottenuti nello studio più pertinente effettuato sugli animali mediante la seguente espressione:

$$EGP = \frac{NOEL \times \text{Correzione del peso}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$

L'EGP deriva, preferibilmente, dal NOEL. Se il NOEL non può essere ottenuto si può utilizzare il valore di LOEL. I fattori di modificazione proposti di seguito, che permettono di applicare i dati all'uomo, rappresentano i «fattori di incertezza» usati nell'EHC (*Environmental Health Criteria, 170, WHO, Ginevra, 1994*), e i «fattori di modificazione» o «fattori di sicurezza» riportati in *Pharmacopoeial Forum*. L'ipotesi di

una esposizione sistemica del 100 per cento è usata in tutti i calcoli senza distinzione tra le diverse vie di somministrazione.

I fattori di modificazione sono i seguenti:

F1 = un fattore che permette l'estrapolazione tra le specie

F1 = 2 per l'estrapolazione dai cani all'uomo

F1 = 2,5 per l'estrapolazione dai conigli all'uomo

F1 = 3 per l'estrapolazione dalle scimmie all'uomo

F1 = 5 per l'estrapolazione dai ratti all'uomo

F1 = 10 per l'estrapolazione da altri animali all'uomo

F1 = 12 per l'estrapolazione dai gatti all'uomo

F1 tiene conto del rapporto comparativo area superficiale: massa corporea per le specie interessate e per l'uomo. L'area superficiale (S) è calcolata come:

$$S = km^{0,67}$$

dove *m* corrisponde alla massa corporea e *k* è una costante il cui valore è stato fissato uguale a 10.

I pesi corporei usati nell'equazione sono quelli riportati nella Tabella A3.1.

F2 = Un fattore 10 che tiene conto della variabilità tra gli individui. Un fattore di 10 è generalmente dato per tutti i solventi organici, ed è usato sistematicamente in questa linea guida.

F3 = Un fattore variabile che tiene conto degli studi di tossicità relativi ad un'esposizione a breve termine.

F3 = 1 per gli studi che hanno una durata pari almeno a metà della vita (1 anno per i roditori o i conigli; 7 anni per i gatti, i cani e le scimmie).

F3 = 1 per studi relativi alla riproduzione la cui durata è pari all'intero periodo di organogenesi.

F3 = 2 per uno studio di sei mesi per i roditori o uno studio della durata di 3,5 anni per i non roditori.

F3 = 5 per uno studio di 3 mesi per i roditori o uno studio della durata di 2 anni per i non roditori.

F3 = 10 per gli studi di durata più breve.

In tutti i casi, il fattore più alto è stato usato per gli studi la cui durata si colloca tra l'inizio e la fine di un determinato periodo, per es. un fattore di 2 per uno studio di 9 mesi per i roditori.

F4 = Un fattore che può essere applicato in casi di tossicità grave, per es. cancerogenicità non genotossica,

neurotossicità o teratogenicità. Negli studi di tossicità sulla riproduzione, si utilizzano i fattori riportati di seguito:

F4 = 1 per la tossicità per il feto associata con la tossicità per la madre

F4 = 5 per la tossicità per il feto senza tossicità per la madre

F4 = 5 per un effetto teratogeno con tossicità per la madre

F4 = 10 per un effetto teratogeno senza tossicità per la madre

F5 = Un fattore variabile che può essere applicato se non è stata stabilita la «dose di non effetto» (*no-effect level*).

Se è disponibile un solo valore di LOEL, può essere usato un fattore fino a 10, in funzione della severità della tossicità.

La correzione del peso considera arbitrariamente e indipendentemente dal sesso, come peso corporeo di un adulto quello di 50 kg. Questo peso, relativamente basso, fornisce un ulteriore margine di sicurezza rispetto ai pesi standard di 60 o 70 kg che sono spesso usati in questo tipo di calcolo. Si ritiene che l'utilizzo cumulativo dei fattori di sicurezza nella determinazione del valore di EGP permetta di proteggere la categoria dei pazienti adulti con peso corporeo inferiore a 50 kg. Se il solvente è presente in una formulazione specificamente destinata ad un uso pediatrico, si deve effettuare una correzione ad un peso corporeo più basso.

Un esempio dell'applicazione di questa equazione è lo studio di tossicità dell'acetoneitrile nei topi riportato in *Pharmeuropa*, Vol. 9, No. 1, Supplemento, Aprile 1997, pag. S24. Il NOEL è calcolato come pari a 50,7 mg kg⁻¹ giorno⁻¹. Il valore di EGP per l'acetoneitrile è calcolato, in questo studio, come segue:

$$EGP = \frac{50,7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ giorno}^{-1} \times 50 \text{ kg}}{12 \times 10 \times 5 \times 1 \times 1} = 4,22 \text{ mg giorno}^{-1}$$

In questo esempio,

F1 = 12 per considerare l'estrapolazione dal topo all'uomo

F2 = 10 per considerare le differenze tra gli individui

F3 = 5 perché la durata dello studio è di sole 13 settimane

F4 = 1 perché non è stata rilevata alcuna tossicità grave

F5 = 1 perché è stata determinata la «dose di non effetto» (*no-effect level*)

Tabella A3.1. - *Valori utilizzati nei calcoli riportati in questo documento*

Peso corporeo del ratto	425 g
Peso corporeo del ratto femmina gravida	330 g
Peso corporeo del topo	28 g
Peso corporeo del topo femmina gravida	30 g
Peso corporeo della cavia	500 g
Peso corporeo della scimmia Rhesus	2,5 kg
Peso corporeo del coniglio (gravido o no)	4 kg
Peso corporeo del cane beagle	11,5 kg
Volume respiratorio del ratto	290 l/giorno
Volume respiratorio del topo	43 l/giorno
Volume respiratorio del coniglio	1440 l/giorno
Volume respiratorio della cavia	430 l/giorno
Volume respiratorio dell'uomo	28800 l/giorno
Volume respiratorio del cane	9000 l/giorno
Volume respiratorio della scimmia	1150 l/giorno
Consumo di acqua del topo	5 ml/giorno

Consumo di acqua del ratto	30 ml/giorno
Consumo di cibo del ratto	30 g/giorno

Negli studi di inalazione, per convertire le concentrazioni dei gas usati da ppm in mg/l o mg/m³ si utilizza l'equazione dei gas ideali, $PV = nRT$. A titolo di esempio, si considera lo studio di tossicità sulla riproduzione del ratto per inalazione di carbonio tetracloruro (peso molecolare 153,84) riportato in *Pharmeuropa*, Vol. 9, No. 1, Supplemento, Aprile 1997, pag. S9.

$$\frac{n}{V} = \frac{P}{RT} =$$

$$= \frac{300 \times 10^{-6} \text{ atm} \times 153840 \text{ mg mol}^{-1}}{0,0821 \text{ l atm K}^{-1} \text{ mol}^{-1} \times 298 \text{ K}} = \frac{46,15 \text{ mg}}{24,45 \text{ l}} = 1,89 \text{ mg/l}$$

Per convertire il risultato in mg/m³ si utilizza la relazione 1000 litri = 1 m³.

5.5. Tabelle alcoolimetriche

5.5.	Tabelle alcoolimetriche	747
------	-----------------------------------	-----

5.5. TABELLE ALCOOLIMETRICHE

La formula generale concordata dal Consiglio della Comunità Europea nella Direttiva del 27 luglio 1976 sull'alcoolimetria è stata utilizzata come base per definire le seguenti tabelle.

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
0,0	0,00	998,20	4,0	3,18	992,41
0,1	0,08	998,05	4,1	3,26	992,28
0,2	0,16	997,90	4,2	3,34	992,14
0,3	0,24	997,75	4,3	3,42	992,00
0,4	0,32	997,59	4,4	3,50	991,87
0,5	0,40	997,44	4,5	3,58	991,73
0,6	0,47	997,29	4,6	3,66	991,59
0,7	0,55	997,14	4,7	3,74	991,46
0,8	0,63	996,99	4,8	3,82	991,32
0,9	0,71	996,85	4,9	3,90	991,19
1,0	0,79	996,70	5,0	3,98	991,06
1,1	0,87	996,55	5,1	4,06	990,92
1,2	0,95	996,40	5,2	4,14	990,79
1,3	1,03	996,25	5,3	4,22	990,65
1,4	1,11	996,11	5,4	4,30	990,52
1,5	1,19	995,96	5,5	4,38	990,39
1,6	1,27	995,81	5,6	4,46	990,26
1,7	1,35	995,67	5,7	4,54	990,12
1,8	1,43	995,52	5,8	4,62	989,99
1,9	1,51	995,38	5,9	4,70	989,86
2,0	1,59	995,23	6,0	4,78	989,73
2,1	1,67	995,09	6,1	4,86	989,60
2,2	1,75	994,94	6,2	4,95	989,47
2,3	1,82	994,80	6,3	5,03	989,34
2,4	1,90	994,66	6,4	5,11	989,21
2,5	1,98	994,51	6,5	5,19	989,08
2,6	2,06	994,37	6,6	5,27	988,95
2,7	2,14	994,23	6,7	5,35	988,82
2,8	2,22	994,09	6,8	5,43	988,69
2,9	2,30	993,95	6,9	5,51	988,56
3,0	2,38	993,81	7,0	5,59	988,43
3,1	2,46	993,66	7,1	5,67	988,30
3,2	2,54	993,52	7,2	5,75	988,18
3,3	2,62	993,38	7,3	5,83	988,05
3,4	2,70	993,24	7,4	5,91	987,92
3,5	2,78	993,11	7,5	5,99	987,79
3,6	2,86	992,97	7,6	6,07	987,67
3,7	2,94	992,83	7,7	6,15	987,54
3,8	3,02	992,69	7,8	6,23	987,42
3,9	3,10	992,55	7,9	6,32	987,29
			8,0	6,40	987,16
			8,1	6,48	987,04
			8,2	6,56	986,91
			8,3	6,64	986,79
			8,4	6,72	986,66
			8,5	6,80	986,54

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
8,6	6,88	986,42	13,2	10,62	980,98
8,7	6,96	986,29	13,3	10,70	980,87
8,8	7,04	986,17	13,4	10,78	980,76
8,9	7,12	986,05	13,5	10,87	980,64
9,0	7,20	985,92	13,6	10,95	980,53
9,1	7,29	985,80	13,7	11,03	980,42
9,2	7,37	985,68	13,8	11,11	980,31
9,3	7,45	985,56	13,9	11,19	980,19
9,4	7,53	985,44			
9,5	7,61	985,31	14,0	11,27	980,08
9,6	7,69	985,19	14,1	11,36	979,97
9,7	7,77	985,07	14,2	11,44	979,86
9,8	7,85	984,95	14,3	11,52	979,75
9,9	7,93	984,83	14,4	11,60	979,64
			14,5	11,68	979,52
10,0	8,01	984,71	14,6	11,77	979,41
10,1	8,10	984,59	14,7	11,85	979,30
10,2	8,18	984,47	14,8	11,93	979,19
10,3	8,26	984,35	14,9	12,01	979,08
10,4	8,34	984,23			
10,5	8,42	984,11	15,0	12,09	978,97
10,6	8,50	983,99	15,1	12,17	978,86
10,7	8,58	983,88	15,2	12,26	978,75
10,8	8,66	983,76	15,3	12,34	978,64
10,9	8,75	983,64	15,4	12,42	978,53
			15,5	12,50	978,42
11,0	8,83	983,52	15,6	12,59	978,31
11,1	8,91	983,40	15,7	12,67	978,20
11,2	8,99	983,29	15,8	12,75	978,09
11,3	9,07	983,17	15,9	12,83	977,98
11,4	9,15	983,05			
11,5	9,23	982,94	16,0	12,91	977,87
11,6	9,32	982,82	16,1	13,00	977,76
11,7	9,40	982,70	16,2	13,08	977,65
11,8	9,48	982,59	16,3	13,16	977,55
11,9	9,56	982,47	16,4	13,24	977,44
			16,5	13,32	977,33
12,0	9,64	982,35	16,6	13,41	977,22
12,1	9,72	982,24	16,7	13,49	977,11
12,2	9,80	982,12	16,8	13,57	977,00
12,3	9,89	982,01	16,9	13,65	976,89
12,4	9,97	981,89			
12,5	10,05	981,78	17,0	13,74	976,79
12,6	10,13	981,67	17,1	13,82	976,68
12,7	10,21	981,55	17,2	13,90	976,57
12,8	10,29	981,44	17,3	13,98	976,46
12,9	10,37	981,32	17,4	14,07	976,35
			17,5	14,15	976,25
13,0	10,46	981,21	17,6	14,23	976,14
13,1	10,54	981,10	17,7	14,31	976,03

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
17,8	14,40	975,92	22,3	18,12	971,08
17,9	14,48	975,81	22,4	18,21	970,97
			22,5	18,29	970,86
18,0	14,56	975,71	22,6	18,37	970,75
18,1	14,64	975,60	22,7	18,46	970,64
18,2	14,73	975,49	22,8	18,54	970,53
18,3	14,81	975,38	22,9	18,62	970,42
18,4	14,89	975,28			
18,5	14,97	975,17	23,0	18,71	970,31
18,6	15,06	975,06	23,1	18,79	970,20
18,7	15,14	974,95	23,2	18,87	970,09
18,8	15,22	974,85	23,3	18,96	969,98
18,9	15,30	974,74	23,4	19,04	969,87
			23,5	19,13	969,76
19,0	15,39	974,63	23,6	19,21	969,65
19,1	15,47	974,52	23,7	19,29	969,54
19,2	15,55	974,42	23,8	19,38	969,43
19,3	15,63	974,31	23,9	19,46	969,32
19,4	15,72	974,20			
19,5	15,80	974,09	24,0	19,54	969,21
19,6	15,88	973,99	24,1	19,63	969,10
19,7	15,97	973,88	24,2	19,71	968,99
19,8	16,05	973,77	24,3	19,79	968,88
19,9	16,13	973,66	24,4	19,88	968,77
			24,5	19,96	968,66
20,0	16,21	973,56	24,6	20,05	968,55
20,1	16,30	973,45	24,7	20,13	968,43
20,2	16,38	973,34	24,8	20,21	968,32
20,3	16,46	973,24	24,9	20,30	968,21
20,4	16,55	973,13			
20,5	16,63	973,02	25,0	20,38	968,10
20,6	16,71	972,91	25,1	20,47	967,99
20,7	16,79	972,80	25,2	20,55	967,87
20,8	16,88	972,70	25,3	20,63	967,76
20,9	16,96	972,59	25,4	20,72	967,65
			25,5	20,80	967,53
21,0	17,04	972,48	25,6	20,88	967,42
21,1	17,13	972,37	25,7	20,97	967,31
21,2	17,21	972,27	25,8	21,05	967,19
21,3	17,29	972,16	25,9	21,14	967,08
21,4	17,38	972,05			
21,5	17,46	971,94	26,0	21,22	966,97
21,6	17,54	971,83	26,1	21,31	966,85
21,7	17,62	971,73	26,2	21,39	966,74
21,8	17,71	971,62	26,3	21,47	966,62
21,9	17,79	971,51	26,4	21,56	966,51
			26,5	21,64	966,39
22,0	17,87	971,40	26,6	21,73	966,28
22,1	17,96	971,29	26,7	21,81	966,16
22,2	18,04	971,18	26,8	21,90	966,05

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
26,9	21,98	965,93	31,4	25,80	960,44
			31,5	25,89	960,31
27,0	22,06	965,81	31,6	25,97	960,18
27,1	22,15	965,70	31,7	26,06	960,05
27,2	22,23	965,58	31,8	26,15	959,92
27,3	22,32	965,46	31,9	26,23	959,79
27,4	22,40	965,35			
27,5	22,49	965,23	32,0	26,32	959,66
27,6	22,57	965,11	32,1	26,40	959,53
27,7	22,65	964,99	32,2	26,49	959,40
27,8	22,74	964,88	32,3	26,57	959,27
27,9	22,82	964,76	32,4	26,66	959,14
			32,5	26,75	959,01
28,0	22,91	964,64	32,6	26,83	958,87
28,1	22,99	964,52	32,7	26,92	958,74
28,2	23,08	964,40	32,8	27,00	958,61
28,3	23,16	964,28	32,9	27,09	958,47
28,4	23,25	964,16			
28,5	23,33	964,04	33,0	27,18	958,34
28,6	23,42	963,92	33,1	27,26	958,20
28,7	23,50	963,80	33,2	27,35	958,07
28,8	23,59	963,68	33,3	27,44	957,94
28,9	23,67	963,56	33,4	27,52	957,80
			33,5	27,61	957,66
29,0	23,76	963,44	33,6	27,69	957,53
29,1	23,84	963,32	33,7	27,78	957,39
29,2	23,93	963,20	33,8	27,87	957,26
29,3	24,01	963,07	33,9	27,95	957,12
29,4	24,10	962,95			
29,5	24,18	962,83	34,0	28,04	956,98
29,6	24,27	962,71	34,1	28,13	956,84
29,7	24,35	962,58	34,2	28,21	956,70
29,8	24,44	962,46	34,3	28,30	956,57
29,9	24,52	962,33	34,4	28,39	956,43
			34,5	28,47	956,29
30,0	24,61	962,21	34,6	28,56	956,15
30,1	24,69	962,09	34,7	28,65	956,01
30,2	24,78	961,96	34,8	28,73	955,87
30,3	24,86	961,84	34,9	28,82	955,73
30,4	24,95	961,71			
30,5	25,03	961,59	35,0	28,91	955,59
30,6	25,12	961,46	35,1	28,99	955,45
30,7	25,20	961,33	35,2	29,08	955,30
30,8	25,29	961,21	35,3	29,17	955,16
30,9	25,38	961,08	35,4	29,26	955,02
			35,5	29,34	954,88
31,0	25,46	960,95	35,6	29,43	954,73
31,1	25,55	960,82	35,7	29,52	954,59
31,2	25,63	960,70	35,8	29,60	954,44
31,3	25,72	960,57	35,9	29,69	954,30

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
36,0	29,78	954,15	40,6	33,83	947,08
36,1	29,87	954,01	40,7	33,92	946,91
36,2	29,95	953,86	40,8	34,01	946,75
36,3	30,04	953,72	40,9	34,10	946,58
36,4	30,13	953,57			
36,5	30,21	953,42	41,0	34,19	946,42
36,6	30,30	953,28	41,1	34,28	946,26
36,7	30,39	953,13	41,2	34,37	946,09
36,8	30,48	952,98	41,3	34,46	945,93
36,9	30,56	952,83	41,4	34,55	945,76
			41,5	34,64	945,59
37,0	30,65	952,69	41,6	34,73	945,43
37,1	30,74	952,54	41,7	34,82	945,26
37,2	30,83	952,39	41,8	34,91	945,09
37,3	30,92	952,24	41,9	35,00	944,93
37,4	31,00	952,09			
37,5	31,09	951,94	42,0	35,09	944,76
37,6	31,18	951,79	42,1	35,18	944,59
37,7	31,27	951,63	42,2	35,27	944,42
37,8	31,35	951,48	42,3	35,36	944,25
37,9	31,44	951,33	42,4	35,45	944,08
			42,5	35,54	943,91
38,0	31,53	951,18	42,6	35,63	943,74
38,1	31,62	951,02	42,7	35,72	943,57
38,2	31,71	950,87	42,8	35,81	943,40
38,3	31,79	950,72	42,9	35,90	943,23
38,4	31,88	950,56			
38,5	31,97	950,41	43,0	35,99	943,06
38,6	32,06	950,25	43,1	36,08	942,88
38,7	32,15	950,10	43,2	36,17	942,71
38,8	32,24	949,94	43,3	36,26	942,54
38,9	32,32	949,79	43,4	36,35	942,37
			43,5	36,44	942,19
39,0	32,41	949,63	43,6	36,53	942,02
39,1	32,50	949,47	43,7	36,62	941,84
39,2	32,59	949,32	43,8	36,71	941,67
39,3	32,68	949,16	43,9	36,80	941,49
39,4	32,77	949,00			
39,5	32,86	948,84	44,0	36,89	941,32
39,6	32,94	948,68	44,1	36,98	941,14
39,7	33,03	948,52	44,2	37,07	940,97
39,8	33,12	948,37	44,3	37,16	940,79
39,9	33,21	948,21	44,4	37,25	940,61
			44,5	37,35	940,43
40,0	33,30	948,05	44,6	37,44	940,26
40,1	33,39	947,88	44,7	37,53	940,08
40,2	33,48	947,72	44,8	37,62	939,90
40,3	33,57	947,56	44,9	37,71	939,72
40,4	33,66	947,40	45,0	37,80	939,54
40,5	33,74	947,24	45,1	37,89	939,36

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
45,2	37,98	939,18	49,8	42,24	930,53
45,3	38,08	939,00	49,9	42,33	930,34
45,4	38,17	938,82			
45,5	38,26	938,64	50,0	42,43	930,14
45,6	38,35	938,46	50,1	42,52	929,95
45,7	38,44	938,28	50,2	42,61	929,75
45,8	38,53	938,10	50,3	42,71	929,55
45,9	38,62	937,91	50,4	42,80	929,35
			50,5	42,90	929,16
46,0	38,72	937,73	50,6	42,99	928,96
46,1	38,81	937,55	50,7	43,08	928,76
46,2	38,90	937,36	50,8	43,18	928,56
46,3	38,99	937,18	50,9	43,27	928,36
46,4	39,08	937,00			
46,5	39,18	936,81	51,0	43,37	928,16
46,6	39,27	936,63	51,1	43,46	927,96
46,7	39,36	936,44	51,2	43,56	927,77
46,8	39,45	936,26	51,3	43,65	927,57
46,9	39,54	936,07	51,4	43,74	927,36
			51,5	43,84	927,16
47,0	39,64	935,88	51,6	43,93	926,96
47,1	39,73	935,70	51,7	44,03	926,76
47,2	39,82	935,51	51,8	44,12	926,56
47,3	39,91	935,32	51,9	44,22	926,36
47,4	40,00	935,14			
47,5	40,10	934,95	52,0	44,31	926,16
47,6	40,19	934,76	52,1	44,41	925,95
47,7	40,28	934,57	52,2	44,50	925,75
47,8	40,37	934,38	52,3	44,60	925,55
47,9	40,47	934,19	52,4	44,69	925,35
			52,5	44,79	925,14
48,0	40,56	934,00	52,6	44,88	924,94
48,1	40,65	933,81	52,7	44,98	924,73
48,2	40,75	933,62	52,8	45,07	924,53
48,3	40,84	933,43	52,9	45,17	924,32
48,4	40,93	933,24			
48,5	41,02	933,05	53,0	45,26	924,12
48,6	41,12	932,86	53,1	45,36	923,91
48,7	41,21	932,67	53,2	45,46	923,71
48,8	41,30	932,47	53,3	45,55	923,50
48,9	41,40	932,28	53,4	45,65	923,30
			53,5	45,74	923,09
49,0	41,49	932,09	53,6	45,84	922,88
49,1	41,58	931,90	53,7	45,93	922,68
49,2	41,68	931,70	53,8	46,03	922,47
49,3	41,77	931,51	53,9	46,13	922,26
49,4	41,86	931,31			
49,5	41,96	931,12	54,0	46,22	922,06
49,6	42,05	930,92	54,1	46,32	921,85
49,7	42,14	930,73	54,2	46,41	921,64

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
54,3	46,51	921,43	58,9	51,00	911,55
54,4	46,61	921,22			
54,5	46,70	921,01	59,0	51,10	911,33
54,6	46,80	920,80	59,1	51,19	911,11
54,7	46,90	920,59	59,2	51,29	910,89
54,8	46,99	920,38	59,3	51,39	910,67
54,9	47,09	920,17	59,4	51,49	910,45
			59,5	51,59	910,23
55,0	47,18	919,96	59,6	51,69	910,01
55,1	47,28	919,75	59,7	51,79	909,78
55,2	47,38	919,54	59,8	51,89	909,56
55,3	47,47	919,33	59,9	51,99	909,34
55,4	47,57	919,12			
55,5	47,67	918,91	60,0	52,09	909,11
55,6	47,77	918,69	60,1	52,19	908,89
55,7	47,86	918,48	60,2	52,29	908,67
55,8	47,96	918,27	60,3	52,39	908,44
55,9	48,06	918,06	60,4	52,49	908,22
			60,5	52,59	908,00
56,0	48,15	917,84	60,6	52,69	907,77
56,1	48,25	917,63	60,7	52,79	907,55
56,2	48,35	917,42	60,8	52,89	907,32
56,3	48,45	917,20	60,9	52,99	907,10
56,4	48,54	916,99			
56,5	48,64	916,77	61,0	53,09	906,87
56,6	48,74	916,56	61,1	53,19	906,64
56,7	48,84	916,35	61,2	53,29	906,42
56,8	48,93	916,13	61,3	53,39	906,19
56,9	49,03	915,91	61,4	53,49	905,97
			61,5	53,59	905,74
57,0	49,13	915,70	61,6	53,69	905,51
57,1	49,23	915,48	61,7	53,79	905,29
57,2	49,32	915,27	61,8	53,89	905,06
57,3	49,42	915,05	61,9	53,99	904,83
57,4	49,52	914,83			
57,5	49,62	914,62	62,0	54,09	904,60
57,6	49,72	914,40	62,1	54,19	904,37
57,7	49,81	914,18	62,2	54,30	904,15
57,8	49,91	913,97	62,3	54,40	903,92
57,9	50,01	913,75	62,4	54,50	903,69
			62,5	54,60	903,46
58,0	50,11	913,53	62,6	54,70	903,23
58,1	50,21	913,31	62,7	54,80	903,00
58,2	50,31	913,09	62,8	54,90	902,77
58,3	50,40	912,87	62,9	55,00	902,54
58,4	50,50	912,65			
58,5	50,60	912,43	63,0	55,11	902,31
58,6	50,70	912,22	63,1	55,21	902,08
58,7	50,80	912,00	63,2	55,31	901,85
58,8	50,90	911,78	63,3	55,41	901,62

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
63,4	55,51	901,39	68,1	60,37	890,23
63,5	55,61	901,15	68,2	60,48	889,99
63,6	55,72	900,92	68,3	60,58	889,75
63,7	55,82	900,69	68,4	60,69	889,50
63,8	55,92	900,46	68,5	60,80	889,26
63,9	56,02	900,23	68,6	60,90	889,01
64,0	56,12	899,99	68,7	61,01	888,77
64,1	56,23	899,76	68,8	61,11	888,52
64,2	56,33	899,53	68,9	61,22	888,28
64,3	56,43	899,29			
64,4	56,53	899,06	69,0	61,32	888,03
64,5	56,64	898,83	69,1	61,43	887,79
64,6	56,74	898,59	69,2	61,54	887,54
64,7	56,84	898,36	69,3	61,64	887,29
64,8	56,94	898,12	69,4	61,75	887,05
64,9	57,05	897,89	69,5	61,85	886,80
			69,6	61,96	886,55
65,0	57,15	897,65	69,7	62,07	886,31
65,1	57,25	897,42	69,8	62,17	886,06
65,2	57,36	897,18	69,9	62,28	885,81
65,3	57,46	896,94			
65,4	57,56	896,71	70,0	62,39	885,56
65,5	57,67	896,47	70,1	62,49	885,31
65,6	57,77	896,23	70,2	62,60	885,06
65,7	57,87	896,00	70,3	62,71	884,82
65,8	57,98	895,76	70,4	62,81	884,57
65,9	58,08	895,52	70,5	62,92	884,32
66,0	58,18	895,28	70,6	63,03	884,07
66,1	58,29	895,05	70,7	63,13	883,82
66,2	58,39	894,81	70,8	63,24	883,57
66,3	58,49	894,57	70,9	63,35	883,32
66,4	58,60	894,33			
66,5	58,70	894,09	71,0	63,46	883,06
66,6	58,81	893,85	71,1	63,56	882,81
66,7	58,91	893,61	71,2	63,67	882,56
66,8	59,01	893,37	71,3	63,78	882,31
66,9	59,12	893,13	71,4	63,89	882,06
			71,5	63,99	881,81
67,0	59,22	892,89	71,6	64,10	881,55
67,1	59,33	892,65	71,7	64,21	881,30
67,2	59,43	892,41	71,8	64,32	881,05
67,3	59,54	892,17	71,9	64,43	880,79
67,4	59,64	891,93			
67,5	59,74	891,69	72,0	64,53	880,54
67,6	59,85	891,45	72,1	64,64	880,29
67,7	59,95	891,20	72,2	64,75	880,03
67,8	60,06	890,96	72,3	64,86	879,78
67,9	60,16	890,72	72,4	64,97	879,52
			72,5	65,08	879,27
68,0	60,27	890,48	72,6	65,19	879,01

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
72,7	65,29	878,75	77,3	70,39	866,67
72,8	65,40	878,50	77,4	70,51	866,40
72,9	65,51	878,24	77,5	70,62	866,13
73,0	65,62	877,99	77,6	70,73	865,86
73,1	65,73	877,73	77,7	70,85	865,59
73,2	65,84	877,47	77,8	70,96	865,32
73,3	65,95	877,21	77,9	71,07	865,05
73,4	66,06	876,96			
73,5	66,17	876,70	78,0	71,19	864,78
73,6	66,28	876,44	78,1	71,30	864,50
73,7	66,39	876,18	78,2	71,41	864,23
73,8	66,50	875,92	78,3	71,53	863,96
73,9	66,61	875,66	78,4	71,64	863,69
			78,5	71,76	863,41
74,0	66,72	875,40	78,6	71,87	863,14
74,1	66,83	875,14	78,7	71,98	862,86
74,2	66,94	874,88	78,8	72,10	862,59
74,3	67,05	874,62	78,9	72,21	862,31
74,4	67,16	874,36			
74,5	67,27	874,10	79,0	72,33	862,04
74,6	67,38	873,84	79,1	72,44	861,76
74,7	67,49	873,58	79,2	72,56	861,49
74,8	67,60	873,32	79,3	72,67	861,21
74,9	67,71	873,06	79,4	72,79	860,94
			79,5	72,90	860,66
75,0	67,82	872,79	79,6	73,02	860,38
75,1	67,93	872,53	79,7	73,13	860,10
75,2	68,04	872,27	79,8	73,25	859,83
75,3	68,15	872,00	79,9	73,36	859,55
75,4	68,26	871,74			
75,5	68,38	871,48	80,0	73,48	859,27
75,6	68,49	871,21	80,1	73,60	858,99
75,7	68,60	870,95	80,2	73,71	858,71
75,8	68,71	870,68	80,3	73,83	858,43
75,9	68,82	870,42	80,4	73,94	858,15
			80,5	74,06	857,87
76,0	68,93	870,15	80,6	74,18	857,59
76,1	69,04	869,89	80,7	74,29	857,31
76,2	69,16	869,62	80,8	74,41	857,03
76,3	69,27	869,35	80,9	74,53	856,75
76,4	69,38	869,09			
76,5	69,49	868,82	81,0	74,64	856,46
76,6	69,61	868,55	81,1	74,76	856,18
76,7	69,72	868,28	81,2	74,88	855,90
76,8	69,83	868,02	81,3	74,99	855,62
76,9	69,94	867,75	81,4	75,11	855,33
			81,5	75,23	855,05
77,0	70,06	867,48	81,6	75,34	854,76
77,1	70,17	867,21	81,7	75,46	854,48
77,2	70,28	866,94	81,8	75,58	854,19

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
81,9	75,70	853,91	86,5	81,24	840,31
			86,6	81,37	840,00
82,0	75,82	853,62	86,7	81,49	839,70
82,1	75,93	853,34	86,8	81,61	839,39
82,2	76,05	853,05	86,9	81,74	839,08
82,3	76,17	852,76			
82,4	76,29	852,48	87,0	81,86	838,77
82,5	76,41	852,19	87,1	81,99	838,46
82,6	76,52	851,90	87,2	82,11	838,15
82,7	76,64	851,61	87,3	82,24	837,84
82,8	76,76	851,32	87,4	82,36	837,52
82,9	76,88	851,03	87,5	82,49	837,21
			87,6	82,61	836,90
83,0	77,00	850,74	87,7	82,74	836,59
83,1	77,12	850,45	87,8	82,86	836,27
83,2	77,24	850,16	87,9	82,99	835,96
83,3	77,36	849,87			
83,4	77,48	849,58	88,0	83,11	835,64
83,5	77,60	849,29	88,1	83,24	835,32
83,6	77,72	848,99	88,2	83,37	835,01
83,7	77,84	848,70	88,3	83,49	834,69
83,8	77,96	848,41	88,4	83,62	834,37
83,9	78,08	848,11	88,5	83,74	834,05
			88,6	83,87	833,73
84,0	78,20	847,82	88,7	84,00	833,41
84,1	78,32	847,53	88,8	84,13	833,09
84,2	78,44	847,23	88,9	84,25	832,77
84,3	78,56	846,93			
84,4	78,68	846,64	89,0	84,38	832,45
84,5	78,80	846,34	89,1	84,51	832,12
84,6	78,92	846,05	89,2	84,64	831,80
84,7	79,04	845,75	89,3	84,76	831,48
84,8	79,16	845,45	89,4	84,89	831,15
84,9	79,28	845,15	89,5	85,02	830,82
85,0	79,40	844,85	89,6	85,15	830,50
85,1	79,53	844,55	89,7	85,28	830,17
85,2	79,65	844,25	89,8	85,41	829,84
85,3	79,77	843,95	89,9	85,54	829,51
85,4	79,89	843,65			
85,5	80,01	843,35			
85,6	80,14	843,05	90,0	85,66	829,18
85,7	80,26	842,75	90,1	85,79	828,85
85,8	80,38	842,44	90,2	85,92	828,52
85,9	80,50	842,14	90,3	86,05	828,19
			90,4	86,18	827,85
86,0	80,63	841,84	90,5	86,31	827,52
86,1	80,75	841,53	90,6	86,44	827,18
86,2	80,87	841,23	90,7	86,57	826,85
86,3	81,00	840,92	90,8	86,71	826,51
86,4	81,12	840,62	90,9	86,84	826,17

Tabelle alcoolimetriche

<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)	<i>% V/V</i>	<i>% m/m</i>	ρ_{20} (kg/m ³)
91,0	86,97	825,83	95,6	93,26	809,02
91,1	87,10	825,49	95,7	93,41	808,63
91,2	87,23	825,15	95,8	93,55	808,23
91,3	87,36	824,81	95,9	93,69	807,82
91,4	87,49	824,47			
91,5	87,63	824,13	96,0	93,84	807,42
91,6	87,76	823,78	96,1	93,98	807,01
91,7	87,89	823,44	96,2	94,13	806,61
91,8	88,02	823,09	96,3	94,27	806,20
91,9	88,16	822,74	96,4	94,42	805,78
			96,5	94,57	805,37
92,0	88,29	822,39	96,6	94,71	804,96
92,1	88,42	822,04	96,7	94,86	804,54
92,2	88,56	821,69	96,8	95,01	804,12
92,3	88,69	821,34	96,9	95,16	803,70
92,4	88,83	820,99			
92,5	88,96	820,63	97,0	95,31	803,27
92,6	89,10	820,28	97,1	95,45	802,85
92,7	89,23	819,92	97,2	95,60	802,42
92,8	89,37	819,57	97,3	95,75	801,99
92,9	89,50	819,21	97,4	95,90	801,55
			97,5	96,05	801,12
93,0	89,64	818,85	97,6	96,21	800,68
93,1	89,77	818,49	97,7	96,36	800,24
93,2	89,91	818,12	97,8	96,51	799,80
93,3	90,05	817,76	97,9	96,66	799,35
93,4	90,18	817,40			
93,5	90,32	817,03	98,0	96,81	798,90
93,6	90,46	816,66	98,1	96,97	798,45
93,7	90,59	816,30	98,2	97,12	798,00
93,8	90,73	815,93	98,3	97,28	797,54
93,9	90,87	815,55	98,4	97,43	797,08
			98,5	97,59	796,62
94,0	91,01	815,18	98,6	97,74	796,15
94,1	91,15	814,81	98,7	97,90	795,68
94,2	91,29	814,43	98,8	98,06	795,21
94,3	91,43	814,06	98,9	98,22	794,73
94,4	91,56	813,68			
94,5	91,70	813,30	99,0	98,38	794,25
94,6	91,84	812,92	99,1	98,53	793,77
94,7	91,98	812,54	99,2	98,69	793,28
94,8	92,13	812,15	99,3	98,86	792,79
94,9	92,27	811,77	99,4	99,02	792,30
			99,5	99,18	791,80
95,0	92,41	811,38	99,6	99,34	791,29
95,1	92,55	810,99	99,7	99,50	790,79
95,2	92,69	810,60	99,8	99,67	790,28
95,3	92,83	810,21	99,9	99,83	789,76
95,4	92,98	809,82			
95,5	93,12	809,42	100,0	100,0	789,24

5.6. Dosaggio degli interferoni

5.6.	Dosaggio degli interferoni	761
------	--------------------------------------	-----

5.6. DOSAGGIO DEGLI INTERFERONI

La sezione seguente si riporta come informazione.

1. INTRODUZIONE

Le monografie sugli interferoni di origine umana generalmente descrivono un dosaggio biologico basato sull'attività inibitoria esercitata dall'interferone sull'azione citopatica di un virus in una linea cellulare in coltura. Nella maggior parte dei casi, tuttavia, non sono specificati il virus, la linea cellulare ed i dettagli del dosaggio, in particolare per consentire l'appropriata flessibilità laddove la monografia si riferisce a più di una sottoclasse di interferoni.

Questo testo è destinato a fornire un'informazione schematica all'analista su come progettare, ottimizzare e convalidare un dosaggio una volta che è stata identificata un'appropriata combinazione della linea cellulare e del virus citopatico. La procedura dettagliata per un dosaggio antivirale basato sull'analisi dell'effetto citopatico viene descritta riportandola come esempio di un saggio adeguato, insieme all'informazione su altre combinazioni di linee cellulari e virus, e come linea guida su come adattare e convalidare la procedura per queste altre combinazioni.

2. DOSAGGI ANTIVIRALI (RIDUZIONE DELL'EFFETTO CITOPATICO)

Il dosaggio antivirale degli interferoni di origine umana è basato sull'induzione di una risposta che previene o riduce l'effetto citopatico di un virus in cellule umane. L'attività biologica dell'interferone è valutata confrontando il suo effetto protettivo verso l'effetto citopatico virale rispetto allo stesso effetto indotto dall'appropriata preparazione di riferimento titolata in Unità Internazionali.

3. DOSAGGIO DELL'INTERFERONE USANDO LE CELLULE Hep2c E IL VIRUS DELL'ENCEFALOMIocardite INFETTIVA

Il dosaggio antivirale degli interferoni di origine umana descritto si basa sulla riduzione dell'effetto citopatico. Si utilizzano cellule umane Hep2c infettate con il virus dell'encefalomiocardite (EMCV) per misurare l'attività biologica di differenti preparazioni di interferoni di origine umana. Il dosaggio è stato usato in tre studi internazionali collaborativi dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) di Standard Internazionali proposti per l'interferone alfa, l'interferone beta e l'interferone gamma di origine umana ed ha dimostrato ripetutamente di essere sensibile, realizzabile e riproducibile per la valutazione dell'attività biologica di differenti tipi di interferone di origine umana.

Per le colture di cellule di origine umana tutte le procedure che si utilizzano sono quelle operative standard per il mantenimento in coltura di tali linee cellulari. I volumi dei reattivi sono indicati per colture cellulari effettuate in flaconi da 75 cm². Si possono usare altri tipi di contenitori (bottiglie o piastre) ma i volumi devono essere conseguentemente adattati.

3.1 MANTENIMENTO E PREPARAZIONE DELLE CELLULE HEP2C

Le cellule Hep2c sono mantenute e passate nel terreno di coltura A.

Le cellule sono conservate in aliquote congelate usando procedure operative standard. Le cellule in crescita possono essere mantenute in coltura fino ad un numero massimo di 30 passaggi, dopo il quale devono essere allestite nuove colture a partire dalle aliquote congelate.

All'inizio della procedura di dosaggio, raccogliere le cellule dai flaconi che presentano il 90 per cento di confluenza del monostrato, usando la procedura che prevede il trattamento con tripsina descritto di seguito.

- Rimuovere il terreno di coltura dai flaconi.
- A ciascun flacone aggiungere 5 ml di una soluzione di tripsina scaldata a 37 °C (la soluzione madre di tripsina contiene 4 mg/ml di *tripsina R* e 4 mg/ml di *sodio edetato R*; immediatamente prima dell'uso diluire 50 volte con la soluzione salina tamponata con fosfato). Ruotare il flacone chiuso per lavare il monostrato cellulare. Rimuovere l'eccesso della soluzione di tripsina.
- Incubare i flaconi per 5-10 min a 37 °C. Osservare al microscopio o ad occhio nudo le cellule per evidenziare i segni di distacco. Quando sono osservate al microscopio le cellule appaiono arrotondate o distaccate e galleggianti. Agitare il flacone energicamente per distaccare tutte le cellule, ed aggiungere circa 5 ml di terreno di coltura A. Agitare energicamente in modo da ottenere una sospensione di singole cellule.
- Per preparare la sospensione cellulare per la titolazione dell'interferone, disperdere accuratamente le cellule mediante pipettamento per eliminare gli aggregati cellulari. Contare le cellule e sospenderle di nuovo ad una concentrazione di 6×10^5 cellule/ml.

3.2 PROPAGAZIONE DEL VIRUS DELL'ENCEFALOMIocardite

Il virus dell'encefalomiocardite è propagato nelle cellule di topo L-929 in modo da ottenere una sospensione madre di virus. Le cellule L-929 sono mantenute in coltura mediante trattamento con tripsina e passaggio

come descritto per le cellule Hep2c (*NOTA: nel caso di una crescita scarsa può essere necessario sostituire il siero di vitello neonato con il siero fetale bovino*).

Prendere alcuni flaconi contenenti colture confluenti di cellule L-929. Prelevare il terreno contenuto nei flaconi. Introdurre in ciascun flacone 2 ml della sospensione del virus dell'encefalomiocardite (EMCV) appropriatamente diluito nel terreno di coltura B in modo che quest'ultimo contenga circa $2,5 \times 10^8$ unità formanti colonie (UFC) per millilitro. Ciascun flacone conterrà $4-6 \times 10^7$ cellule L-929 e quindi la molteplicità dell'infezione sarà circa 10 UFC/cellula. Distribuire, con precauzione ed agitando circolarmente, la sospensione virale sull'intero monostrato cellulare; riporre i flaconi in un incubatore per circa 1 h. Mantenere il terreno a pH 7,4-7,8.

Dopo l'adsorbimento del virus EMCV, aggiungere a ciascun flacone circa 40 ml di terreno di coltura B e riporre i flaconi in un incubatore a 37 °C per circa 30 h. Mantenere il terreno a pH 7,4-7,8 in modo da ottenere una resa virale massima. Prelevare il supernatante della coltura e conservarlo a circa 4 °C.

Porre i flaconi a -20 °C per congelare il monostrato cellulare, poi scongelarli a temperatura ambiente. Aggiungere circa 5 ml di terreno di coltura ed agitare il flacone per rompere la membrana cellulare. Trasferire il contenuto di ciascun flacone nel contenitore in cui era stato raccolto il supernatante della coltura. Trasferire il supernatante della coltura contenente il virus dell'encefalomiocardite in provette di plastica da centrifuga da 50 ml e centrifugare a circa 500 g per circa 10 min per eliminare i detriti cellulari. Ripartire il liquido di coltura chiarificato in contenitori di vetro con tappo a vite, in quantità di 20 ml, 10 ml, 5 ml, 1 ml, 0,5 ml o 0,2 ml a seconda del caso. Conservare a -70 °C. Volumi più grandi possono essere scongelati, ripartiti in quantità più piccole e congelati di nuovo se necessario. La sospensione madre di virus dell'encefalomiocardite rimarrà al suo titolo iniziale se conservata costantemente a circa -70 °C; cicli ripetuti di congelamento e scongelamento o la conservazione a temperature più elevate, per es. -20 °C, provoca una perdita progressiva del titolo.

3.3 PROCEDURA DI DOSAGGIO

3.3.1. Determinazione dell'intervallo dose-risposta.

Preparazione delle soluzioni

Diluire l'appropriato standard dell'interferone (per es. uno standard OMS specifico per il sotto-tipo di interferone) nel terreno di coltura A in modo da ottenere una serie di diluizioni in ragione di 10 che comprende l'intervallo di dosi 1000-0,001 U.I./ml. Effettuare la procedura di dosaggio utilizzando piastre di microtitolazione

a 96 pozzetti. Aggiungere a ciascun pozzetto 100 µl di terreno di coltura A. Aggiungere circa 100 µl di ciascuna diluizione della preparazione di riferimento a ciascun pozzetto ad eccezione di quelli destinati ai controlli del virus. Mescolare il contenuto dei pozzetti usando una pipetta multicanale regolata a 100 µl.

Ripartizione della sospensione cellulare

Versare la sospensione cellulare di cellule Hep2c, precedentemente portata alla concentrazione di circa 6×10^5 cellule per ml in terreno di coltura A, su una piastra di Petri in plastica. Distribuire 100 µl di questa sospensione cellulare in ciascun pozzetto delle piastre da microtitolazione usando una pipetta multicanale.

Incubare le piastre per circa 24 h in un incubatore a 37 °C e con il 5 per cento di CO₂.

Infezione virale

A questo punto, usando un microscopio rovesciato, verificare che i monostrati di cellule Hep2c siano confluenti, che presentino una distribuzione relativamente uniforme, che abbiano una corretta morfologia e che siano vitali.

Eliminare la maggior parte di terreno di coltura dai pozzetti rovesciando la piastra, scuotendola ed asciugandola con della carta assorbente (procedere nello stesso modo quando si eliminano i fluidi dalle piastre di microtitolazione come descritto più avanti). Diluire la sospensione madre di virus dell'encefalomiocardite con il terreno di coltura A preparato di recente in modo da ottenere un titolo di circa 3×10^7 UFC per ml (*NOTA: sono necessari circa 20 ml di virus diluito per ciascuna piastra, più il 5-10 per cento di volume in eccesso*). Distribuire 200 µl di sospensione virale precedentemente diluita, mediante una pipetta multicanale, da una piastra di Petri sterile di 9 cm in tutti i pozzetti compresi quelli dei controlli del virus escludendo quelli destinati per i controlli delle cellule. Aggiungere circa 200 µl di terreno di coltura A privo di virus a ciascuno dei pozzetti delle cellule di controllo.

Riporre le piastre in incubatore a 37 °C e con il 5 per cento di CO₂ per circa 24 h.

Colorazione

Esaminare le piastre al microscopio per verificare che il virus dell'encefalomiocardite abbia provocato un effetto citopatico nei pozzetti di controllo contenenti virus. Il tempo necessario per ottenere un effetto citopatico massimo può variare da un saggio all'altro a causa della variabilità intrinseca delle cellule Hep2c all'infezione virale che si può avere durante un determinato periodo di coltivazione continua. Rimuovere la

maggior parte del terreno di coltura dai pozzetti eliminandola in una appropriata soluzione di decontaminazione (il sodio ipoclorito è adatto). Distribuire *tampone fosfato soluzione salina a pH 7,4 R* in ciascun pozzetto. Eliminare il *tampone fosfato soluzione salina a pH 7,4 R* nella soluzione di decontaminazione. Ripartire in ciascun pozzetto 150 µl di soluzione colorante e colorare le cellule per circa 30 min a temperatura ambiente. Eliminare la soluzione colorante in una soluzione di decontaminazione. Distribuire in ciascun pozzetto 150 µl circa di soluzione per la fissazione e lasciare agire per 10 min a temperatura ambiente. Eliminare la soluzione di fissazione nella soluzione di decontaminazione e lavare i monostrati cellulari immergendo le piastre da titolazione in un recipiente di plastica contenente acqua corrente. Eliminare l'acqua ed asciugare la superficie delle piastre con carta assorbente. Asciugare le piastre a 20-37 °C fino ad evaporazione completa dell'umidità.

Aggiungere a ciascun pozzetto 150 µl di *sodio idrossido 0,1 M*. Eluire il colorante agitando dolcemente le piastre o battendole sul palmo della mano. Fare attenzione che il colorante sia distribuito uniformemente in tutti i pozzetti prima di effettuare le letture spettrofotometriche.

Leggere l'assorbanza a 610-620 nm mediante un lettore di piastre da microtitolazione usando come bianco un pozzetto o una colonna di pozzetti che non contengono cellule ma circa 150 µl di *sodio idrossido 0,1 M*.

Valutare le concentrazioni dello standard di interferone che danno la massima riduzione e la minima riduzione dell'effetto citopatico. Queste concentrazioni corrispondono all'intervallo di lavoro del dosaggio.

3.3.2. Procedura di dosaggio

Effettuare il dosaggio come descritto precedentemente usando:

- come soluzioni in esame, la sostanza che deve essere titolata, diluita in ragione di due con il terreno di coltura A in modo da ottenere concentrazioni nominali che comprendono l'intervallo di lavoro del dosaggio,
- come soluzioni di riferimento, una serie di diluizioni in ragione di due dell'appropriato standard per l'interferone (per es. uno standard OMS specifico per un sotto-tipo di interferone) diluito con il terreno di coltura A in modo da ottenere concentrazioni nominali che comprendono l'intervallo di lavoro del dosaggio.

3.3.3. Analisi dei dati

I risultati del dosaggio di riduzione dell'effetto citopatico seguono generalmente una curva dose-risposta di tipo sigmoidale quando si riporta la concentrazione dell'interferone (il log del reciproco della diluizione di interferone) in funzione dell'assorbanza.

Riportare su grafico la concentrazione dell'interferone (il log del reciproco della diluizione) in funzione dell'assorbanza della preparazione di riferimento dell'interferone e le soluzioni in esame dell'interferone. Usare la parte lineare della curva e calcolare la concentrazione dell'interferone nel campione confrontando i valori della soluzione in esame e delle soluzioni di riferimento usando i metodi statistici usuali per un dosaggio a linee parallele.

4. CONVALIDA DELLE ALTRE PROCEDURE

4.1. SCELTA DELLA LINEA CELLULARE E DEL VIRUS

Diverse combinazioni di linee cellulari e virus possono essere utilizzate nei dosaggi antivirali degli interferoni. Per esempio il virus dell'encefalomiocardite è stato usato in combinazione con la linea cellulare A549 del carcinoma epiteliale del polmone; il virus della foresta di Semliki o il virus Sindbis sono stati usati con fibroblasti umani; il virus della stomatite vescicolare è stato usato con fibroblasti diploidi di origine umana, con la linea cellulare amniotica umana WISH e con la linea di cellule renali di origine bovina di Madin-Darby. In ogni caso la scelta della combinazione linea cellulare-virus è effettuata generalmente sulla base di quella che fornisce la risposta più sensibile per la preparazione di interferone da dosare e che permette di ottenere risposte parallele quando si confrontano la preparazione in esame e lo standard di interferone.

4.2. SCELTA DELLA TECNICA DI COLORAZIONE

La tecnica di colorazione descritta precedentemente misura le cellule vitali. Sono state utilizzate anche altre tecniche, tra cui la colorazione con violetto di metile e con cristal violetto o la procedura di conversione all'azzurro di tiazolile. In ogni caso il metodo è selezionato sulla base della produzione di un'appropriata relazione lineare e sensibile tra la colorazione e la conta delle cellule vitali.

4.3. CONVALIDA STATISTICA

Come in tutti i dosaggi biologici effettuati secondo il modello a linee parallele, il dosaggio dell'attività antivirale deve soddisfare i criteri statistici usuali di linearità della risposta, del parallelismo e della varianza.

Dosaggio degli interferoni

4.4. CONVALIDA DELLO SCHEMA DI DOSAGGIO

Come per tutti i dosaggi su piastre di microtitolazione è necessaria una validazione dello schema di dosaggio utilizzato. In particolare devono essere rivelati gli errori dovuti ad un ordine di mescolamento non casuale dei pozzetti o agli effetti dei bordi della piastra e devono essere valutati ed eliminati mediante randomizzazione dello schema di dosaggio o evitando di utilizzare i pozzetti ai bordi della piastra.

REATTIVI E TERRENI DI COLTURA

Terreno di coltura A (siero di vitello neonato: 10 per cento)

Terreno di coltura RPMI 1640 se necessario addizionato di antibiotici (penicillina 10000 U.I./ml; streptomina 10ng/ml)	450 ml
L-Glutamina, 200 mM, sterile	5 ml
Siero di vitello neonato	50 ml

Terreno di coltura B (siero fetale bovino: 2 per cento)

Terreno di coltura RPMI 1640 se necessario addizionato di antibiotici (penicillina 10000 U.I./ml; streptomina 10ng/ml)	490 ml
L-Glutamina, 200 mM, sterile	5 ml
Siero di vitello neonato	10 ml

Soluzione di colorazione

Naftalene nero	0,5 g
Acido acetico glaciale	90 ml
Sodio acetato anidro	8,2 g
Acqua in modo da ottenere	1000 ml

Soluzione per la fissazione

Formaldeide 40 per cento	100 ml
Acido acetico glaciale	90 ml
Sodio acetato anidro	8,2 g
Acqua in modo da ottenere	1000 ml

5.7. Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

5.7.	Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea	767
------	--	-----

Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

5.7. TABELLA DELLE CARATTERISTICHE FISICHE DEI RADIONUCLIDI MENZIONATI NELLA FARMACOPEA EUROPEA

La tabella seguente completa la monografia generale *Preparazioni radiofarmaceutiche (0125)*.

I valori sono ottenuti dall'archivio dati del *National Nuclear Data Center (NNDC)* del Brookhaven National Laboratory, Upton, N.Y., USA, accessibile direttamente via Internet all'indirizzo: "<http://www.nndc.bnl.gov/nndc/nudat/radform.html>".

Nel caso siano state preferite altre sorgenti di informazione (valori più recenti), tali sorgenti sono esplicitamente menzionate.

Altre risorse di dati:

* DAMRI (*Département des Applications et de la Métrologie des Rayonnements Ionisants*, CEA Gif-sur-Yvette, France),

** PTB (*Physikalisch-Technische Bundesanstalt*, Braunschweig, Germany),

*** NPL (*National Physical Laboratory*, Teddington, Middlesex, UK).

L'incertezza nei valori numerici dei periodi di dimezzamento è mostrata in parentesi. In linea di principio le cifre tra parentesi sono l'incertezza standard delle corrispondenti ultime cifre del valore numerico indicato in "Guide to the Expression of Uncertainty in measurement", *International Organisation for Standardisation (ISO)*, 1993, ISBN 92-67-10188-9).

Sono usate le abbreviazioni seguenti:

e_A = elettroni Auger

ce = elettroni di conversione

β^- = elettroni

β^+ = positroni

γ = raggi gamma

X = raggi X

Radionuclide	Periodo di dimezzamento	Emissione elettronica			Emissione fotonica		
		Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)
Tritio (^3H)	*12,33 (6) anni	* β^-	*0,006 ⁽¹⁾ (max: 0,019)	*100			
Carbonio-11 (^{11}C)	20,385 (20) min	β^+	0,386 ⁽¹⁾ (max: 0,960)	99,8	γ	0,511	199,5 ⁽¹¹⁾
Azoto-13 (^{13}N)	9,965 (4) min	β^+	0,492 ⁽¹⁾ (max: 1,198)	99,8	γ	0,511	199,6 ⁽¹¹⁾
Ossigeno-15 (^{15}O)	122,24 (16) s	β^+	0,735 ⁽¹⁾ (max: 1,732)	99,9	γ	0,511	199,8 ⁽¹¹⁾
Fluoro-18 (^{18}F)	109,77 (5) min	β^+	0,250 ⁽¹⁾ (max: 0,633)	96,7	γ	0,511	193,5 ⁽¹¹⁾
Fosforo-32 (^{32}P)	14,26 (4) giorni	β^-	0,695 ⁽¹⁾ (max: 1,71)	100			
Fosforo-33 (^{33}P)	25,34 (12) giorni	β^-	0,076 ⁽¹⁾ (max: 0,249)	100			
Zolfo-35 (^{35}S)	87,51 (12) giorni	β^-	0,049 ⁽¹⁾ (max: 0,167)	100			
Cromo-51 (^{51}Cr)	27,7025(24) giorni	e_A	0,004	67	X γ	0,005 0,320	22,3 9,9
Cobalto-56 (^{56}Co)	77,27 (3) giorni	e_A β^+	0,006 0,179 ⁽¹⁾ 0,631 ⁽¹⁾	47 0,9 18,1	X γ	0,006-0,007 0,511 0,847 1,038 1,175 1,238 1,360 1,771 2,015 2,035 2,598 3,202 3,253	25 38,0 ⁽¹¹⁾ 100,0 14,1 2,2 66,1 4,3 15,5 3,0 7,8 17,0 3,1 7,6

⁽¹⁾ Energia media dello spettro β

⁽¹¹⁾ Massima probabilità di emissione corrispondente ad un'annichilazione totale della sorgente per 100 disintegrazioni

Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

Radionuclide	Periodo di dimezzamento	Emissione elettronica			Emissione fotonica		
		Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)
Cobalto-57 (⁵⁷ Co)	271,79 (9) giorni	e _A + ce ce	0,006-0,007	177,4	X γ	0,006-0,007	57
			0,014	7,4		0,014	9,2
			0,115	1,8		0,122	85,6
			0,129	1,3		0,136	10,7
						0,692	0,15
Cobalto-58 (⁵⁸ Co)	70,86 (7) giorni	e _A β ⁺	0,006	49,4	X γ	0,006-0,007	26,3
			0,201 ⁽¹⁾	14,9		0,511	29,9 ⁽¹¹⁾
						0,811	99,4
						0,864	0,7
		1,675	0,5				
Cobalto-60 (⁶⁰ Co)	5,2714 (5) anni	β ⁻	0,096 ⁽¹⁾ (max: 0,318)	99,9	γ	1,173 1,333	100,0 100,0
Gallio-66 (⁶⁶ Ga)	9,49 (7) ore	e _A β ⁺	0,008	21	X γ	0,009-0,010	19,1
			0,157 ⁽¹⁾	1		0,511	112 ⁽¹¹⁾
			0,331 ⁽¹⁾	0,7		0,834	5,9
			0,397 ⁽¹⁾	3,8		1,039	37
			0,782 ⁽¹⁾	0,3		1,333	1,2
			1,90 ⁽¹⁾	50		1,919	2,1
						2,190	5,6
						2,423	1,9
						2,752	23,4
						3,229	1,5
		3,381	1,5				
		3,792	1,1				
		4,086	1,3				
		4,295	4,1				
		4,807	1,8				
Gallio-67 (⁶⁷ Ga)	3,2612 (6) giorni	e _A ce	0,008	62	X γ	0,008-0,010	57
			0,082-0,084	30,4		0,091-0,093	42,4
			0,090-0,092	3,6		0,185	21,2
			0,175	0,3		0,209	2,4
						0,300	16,8
		0,394	4,7				
		0,888	0,15				
Germanio-68 (⁶⁸ Ge) in equilibrio con Gallio-68 (⁶⁸ Ga)	270,82 (27) giorni (⁶⁸ Ga: 67,629 (24) min)	e _A β ⁺	0,008	42,4	X γ	0,009-0,010	44,1
			0,353 ⁽¹⁾	1,2		0,511	178,3
			0,836 ⁽¹⁾	88,0		1,077	3,0
Gallio-68 (⁶⁸ Ga)	67,629 (24) min	e _A β ⁺	0,008	5,1	X γ	0,009-0,010	4,7
			0,353 ⁽¹⁾	1,2		0,511	178,3
			0,836 ⁽¹⁾	88,0		1,077	3,0
Kripton-81m (^{81m} Kr)	13,10 (3) s	ce	0,176	26,4	X γ	0,012-0,014	17,0
			0,189	4,6		0,190	67,6

⁽¹⁾ Energia media dello spettro β

⁽¹¹⁾ Massima probabilità di emissione corrispondente ad un'annichilazione totale della sorgente per 100 disintegrazioni

Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

Radionuclide	Periodo di dimezzamento	Emissione elettronica			Emissione fotonica		
		Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)
Rubidio-81 (⁸¹ Rb) in equilibrio con Krypton-81m (^{81m} Kr)	4,576 (5) ore	e _A	0,011	31,3	X	0,013-0,014	57,2
		ce	0,176	25,0	γ	0,190	64
			0,188	4,3		0,446	23,2
	^{81m} Kr: 13,10 (3) s	β ⁺	0,253 ⁽¹⁾	1,8		0,457	3,0
			0,447 ⁽¹⁾	25,0		0,510	5,3
						0,511	54,2
					0,538	2,2	
Stronzio-89 (⁸⁹ Sr) in equilibrio con Ittrio-89 (⁸⁹ Y)	50,53 (7) giorni ^{89m} Y: 16,06(4) s	β ⁻	0,583 ⁽¹⁾ (max: 1,492)	99,99	γ	0,909	0,01
Stronzio-90 (⁹⁰ Sr) in equilibrio con Ittrio-90 (⁹⁰ Y)	28,74 (4) anni ⁹⁰ Y: 64,10(8) ore	β ⁻	0,196 ⁽¹⁾ (max: 0,546)	100			
Ittrio-90 (⁹⁰ Y)	64,10 (8) ore	β ⁻	0,934 ⁽¹⁾ (max: 2,280)	100			
Molibdeno-99 (⁹⁹ Mo) in equilibrio con Tecnezio-99m (^{99m} Tc)	65,94 (1) ore	β ⁻	0,133 ⁽¹⁾	16,4	X	0,018-0,021	3,6
			0,290 ⁽¹⁾	1,1			
			0,443 ⁽¹⁾	82,4	γ	0,041	1,1
	^{99m} Tc: 6,01(1) ore					0,141	4,5
						0,181	6
						0,366	1,2
					0,740	12,1	
					0,778	4,3	
Tecnezio-99m (^{99m} Tc)	6,01 (1) ore	ce	0,002	74	X	0,018-0,021	7,3
		e _A	0,015	2,1	γ	1,141	89,1
		ce	0,120	9,4			
			0,137-0,140	1,3			
Tecnezio-99 (⁹⁹ Tc)	2,11x10 ⁵ anni	β ⁻	0,085 ⁽¹⁾ (max: 0,294)	100			
Rutenio-103 (¹⁰³ Ru) in equilibrio con Rodio-103m (^{103m} Rh)	39,26 (2) giorni	e _A + ce	0,017	12	X	0,020-0,023	9,0
		ce	0,030-0,039	88,3	γ	0,497	91
	^{103m} Rh: 56,114 (20) min	β ⁻	0,031 ⁽¹⁾	6,6		0,610	5,8
		0,064 ⁽¹⁾	92,2				
Indio-110 (¹¹⁰ In)	4,9 (1) ore	e _A	0,019	13,4	X	0,023-0,026	70,5
					γ	0,642	25,9
						0,658	98,3
						0,885	92,9
						0,938	68,4
					0,997	10,5	

⁽¹⁾ Energia media dello spettro β

^(II) Massima probabilità di emissione corrispondente ad un'annichilazione totale della sorgente per 100 disintegrazioni

Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

Radionuclide	Periodo di dimezzamento	Emissione elettronica			Emissione fotonica		
		Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)
Indio-110m (^{110m} In)	69,1 (5) min	e _A	0,019	5,3	X	0,023-0,026	27,8
		β ⁺	1,015 ⁽¹⁾	61	γ	0,511	123,4 ⁽¹¹⁾
						0,658	97,8
						2,129	2,1
Indio-111 (¹¹¹ In)	2,8047 (5) giorni	e _A	0,019	15,6	X	0,003	6,9
						0,023-0,026	82,3
		ce	0,145	7,8			
			0,167-0,171	1,3	γ	0,171	90,2
			0,219	4,9		0,245	94,0
Indio-114m (^{114m} In) in equilibrio con Indio-114 (¹¹⁴ In)	49,51 (1) giorni (¹¹⁴ In: 71,9 (1) s)	ce	0,162	40	X	0,023-0,027	36,3
			0,186-0,190	40			
		*β ⁻	0,777 ⁽¹⁾	95	γ	0,190	15,6
						0,558	3,2
						0,725	3,2
Tellurio-121m (^{121m} Te) in equilibrio con Tellurio-121 (¹²¹ Te)	154,0 (7) giorni (¹²¹ Te: 19,16 (5) giorni)	e _A	0,003	88,0	X	0,026-0,031	50,5
			0,022-0,023	7,4			
		ce	0,050	33,2	γ	0,212	81,4
			0,077	40,0		1,102	2,5
			0,180	6,1			
Tellurio-121 (¹²¹ Te)	**19,16 (5) giorni	e _A	0,022	11,6	X	0,026-0,030	75,6
					γ	0,470	1,4
						0,508	17,7
						0,573	80,3
Iodio-123 (¹²³ I)	13,27 (8) ore	e _A	0,023	12,3	X	0,004	9,3
						0,027-0,031	86,6
		ce	0,127	13,6			
			0,154	1,8	γ	0,159	83,3
			0,158	0,4		0,346	0,1
						0,440	0,4
						0,505	0,3
				0,529	1,4		
				0,538	0,4		
Iodio-125 (¹²⁵ I)	59,402 (14) giorni	e _A +ce	0,0044	80	X	0,004	15,5
			0,023-0,035	33		0,027	114
						0,031	26
					γ	0,035	6,7

⁽¹⁾ Energia media dello spettro β

⁽¹¹⁾ Massima probabilità di emissione corrispondente ad un'annichilazione totale della sorgente per 100 disintegrazioni

Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

Radionuclide	Periodo di dimezzamento	Emissione elettronica			Emissione fotonica		
		Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)
Iodio-126 (¹²⁶ I)	13,11 (5) giorni	e _A	0,023	6	X	0,027-0,031	42,2
		ce	0,354	0,5	γ	0,388	34
			0,634	0,1		0,491	2,9
						0,511	2,3 ^(II)
		β ⁻	0,109 ^(I)	3,6		0,666	33
			0,290 ^(I)	32,1		0,754	4,2
			0,459 ^(I)	8,0		0,880	0,8
				1,420	0,3		
β ⁺	0,530 ^(I)	1					
Iodio-131 (¹³¹ I)	8,02070 (11) giorni	ce	0,46	3,5	X	0,029-0,030	3,9
			0,330	1,6			
		β ⁻	0,069 ^(I)	2,1	γ	0,080	2,6
			0,097 ^(I)	7,3		0,284	6,1
			0,192 ^(I)	89,9		0,365	81,7
			0,637	7,2			
			0,723	1,8			
Xenon-131m (^{131m} Xe)	11,84 (7) giorni	e _A	0,025	6,8	X	0,004	8,3
						0,030	44,0
		ce	0,129	61	γ	0,034	10,2
			0,159	28,5		0,164	2,0
	0,163	8,3					
Iodio-133 (¹³³ I) (decade in Xenon-133 radioattivo)	20,8 (1) ore	β ⁻	0,140 ^(I)	3,8	γ	0,530	87
			0,162 ^(I)	3,2		0,875	4,5
			0,299 ^(I)	4,2		1,298	2,4
			0,441 ^(I)	83			
Xenon-133 (¹³³ Xe)	5,243 (1) giorni	e _A	0,026	5,8	X	0,004	6,3
						0,031	40,3
		ce	0,045	55,1	γ	0,035	9,4
			0,075-0,080	9,9		0,080	38,3
		β ⁻	0,101 ^(I)	99,0			
Xenon-133m (^{133m} Xe) (decade in Xenon-133 radioattivo)	2,19 (1) giorni	e _A	0,025	7	X	0,004	7,8
						0,030	45,9
		ce	0,199	64,0	γ	0,034	10,6
			0,228	20,7		0,233	10,0
	0,232	4,6					
Iodio-135 (¹³⁵ I) (decade in Xenon-135 radioattivo)	6,57 (2) ore	β ⁻	0,140 ^(I)	7,4	γ	*0,527	13,8
			0,237 ^(I)	8		0,547	7,2
			0,307 ^(I)	8,8		0,837	6,7
			0,352 ^(I)	21,9		1,039	8,0
			0,399 ^(I)	8		1,132	22,7
			0,444 ^(I)	7,5		1,260	28,9
			0,529 ^(I)	23,8		1,458	8,7
			1,678	9,6			
			1,791	7,8			

^(I) Energia media dello spettro β

^(II) Massima probabilità di emissione corrispondente ad un'annichilazione totale della sorgente per 100 disintegrazioni

Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

Radionuclide	Periodo di dimezzamento	Emissione elettronica			Emissione fotonica			
		Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	
Xenon-135 (¹³⁵ Xe)	9,14 (2) ore	ce	0,214	5,5	X	0,031-0,035	5,0	
		β ⁻	0,171 0,308	3,1 96,0	γ	0,250 0,608	90,2 2,9	
Cesio-137 (¹³⁷ Cs) in equilibrio con Bario-137m (^{137m} Ba)	30,04 (3) ore (^{137m} Ba: 2,552 (1) min)	e _A	0,026	0,8	X	0,005 0,032-0,036	1 7	
		ce	0,624 0,656	8,0 1,4	γ	0,662	85,1	
		β ⁻	0,174 ⁽¹⁾ 0,416 ⁽¹⁾	94,4 5,6				
Tallio-200 (²⁰⁰ Tl)	26,1 (1) ore	ce	0,285	3,4	X	0,010	32,0	
			0,353	1,4		0,069-0,071	63,3	
			0,495 ⁽¹⁾	0,3		0,08	17,5	
		β ⁺	γ	0,368	87,2			
				0,579	13,8			
				0,828	10,8			
				1,206	29,9			
				1,226	3,4			
				1,274	3,3			
				1,363	3,4			
1,515	4,0							
Piombo-201 (²⁰¹ Pb) (decade in Tallio-201 radioattivo)	9,33 (3) ore	e _A	0,055	3	X	0,070-0,073	69	
		ce	0,246	8,5	γ	0,083	19	
			0,276	2		0,331	79	
			0,316	2,3		0,361	9,9	
		0,406	2,0					
		0,585	3,6					
		0,692	4,3					
		0,767	3,2					
		0,826	2,4					
		0,908	5,7					
0,946	7,9							
1,099	1,8							
1,277	1,6							
Tallio-201 (²⁰¹ Tl)	72,912 (17) ore	ce	0,016-0,017	17,7	X	0,010	46,0	
			0,027-0,029	4,1		0,069-0,071	73,7	
			0,052	7,2		0,080	20,4	
			0,084	15,4		γ	0,135	2,6
			0,153	2,6			0,167	10,0

⁽¹⁾ Energia media dello spettro β

⁽¹¹⁾ Massima probabilità di emissione corrispondente ad un'annichilazione totale della sorgente per 100 disintegrazioni

Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea

Radionuclide	Periodo di dimezzamento	Emissione elettronica			Emissione fotonica		
		Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)	Tipo	Energia (MeV)	Probabilità di emissione (per 100 disintegrazioni)
Tallio-202 (²⁰² Tl)	12,23 (2) giorni	e _A	0,054	2,8	X	0,010	31,0
		ce	0,357	2,4	γ	0,069-0,071	61,6
						0,080	17,1
					0,440	91,4	
Piombo-203 (²⁰³ Pb)	51,873 (9) ore	e _A	0,055	3,0	X	0,010	37,0
		ce	0,194	13,3	γ	0,071-0,073	69,6
						0,083	19,4
					0,279	80,8	
					0,401	3,4	

^(I) Energia media dello spettro β
^(II) Massima probabilità di emissione corrispondente ad un'annichilazione totale della sorgente per 100 disintegrazioni

5.8. Armonizzazione delle Farmacopee

5.8. Armonizzazione delle Farmacopee 777

5.8. ARMONIZZAZIONE DELLE FARMACOPEE

Questo capitolo generale è incluso per informazione agli utilizzatori della Farmacopea. Esso fornisce delle indicazioni sul grado di armonizzazione e, di conseguenza, sull'intercambiabilità dei diversi capitoli generali e delle monografie della Farmacopea Europea, con quelli della Farmacopea Giapponese e della Farmacopea degli Stati Uniti. Questo capitolo non influenza in nessun modo il carattere delle monografie e dei capitoli generali, riferimenti ufficiali in caso di dubbio o di disputa laddove è richiesta la conformità alla Farmacopea Europea.

La Commissione di Farmacopea Europea riconosce l'utilità di una cooperazione con le altre organizzazioni di farmacopea per elaborare monografie e capitoli generali armonizzati. Questa armonizzazione è totalmente compatibile con gli obiettivi della Commissione e dà luogo a ricadute positive di diverso tipo, in particolare la semplificazione e la razionalizzazione dei metodi di controllo della qualità e delle procedure di registrazione. Questa armonizzazione potenzia anche i benefici dei lavori dell'*International Conference on Harmonisation (ICH)* e della *Veterinary International Co-operation on Harmonisation (VICH)* poiché alcune linee guida elaborate in questi ambiti dipendono per la loro applicazione dai Capitoli generali della farmacopea.

Il lavoro di armonizzazione è realizzato mediante una procedura ben definita ma informale nell'ambito del Gruppo di Discussione delle Farmacopee («*Pharmacopoeial Discussion Group*», PDG) costituito da rappresentanti della Farmacopea Europea, della Farmacopea Giapponese e della Farmacopea degli Stati Uniti.

Le informazioni relative agli argomenti che sono stati trattati dal PDG saranno riportate nelle future versioni revisionate di questo capitolo generale.

Quando viene fatta l'armonizzazione dei capitoli generali, l'obiettivo è quello di arrivare a metodi o requisiti intercambiabili, in modo tale che la dimostrazione della conformità ottenuta facendo riferimento ad un capitolo generale di una delle tre farmacopee implica che lo stesso risultato sarebbe stato ottenuto facendo riferimento al capitolo generale di ciascuna delle altre due farmacopee. Nel caso in cui dovessero essere presenti alcune differenze nei capitoli generali armonizzati, le informazioni a questo riguardo saranno riportate nelle future versioni di questo capitolo generale.

Quando viene fatta l'armonizzazione delle monografie, l'obiettivo è quello di arrivare a requisiti identici per tutte le caratteristiche del prodotto. Per alcuni prodotti può essere estremamente difficoltoso realizzare un'armonizzazione completa, per esempio a causa delle differenze del carattere legale e dell'interpretazione. Il PDG a questo riguardo ha ritenuto utile approvare e pubblicare le monografie nelle quali è stata armonizzata la maggior parte delle caratteristiche. Le informazioni relative alle caratteristiche non armonizzate saranno riportate nelle future versioni di questo capitolo generale.

Le tre Farmacopee hanno deciso di non procedere a cambiamenti unilaterali nel caso di monografie e di capitoli generali armonizzati, ma piuttosto di applicare la concordata procedura di revisione in base alla quale le tre Farmacopee adottano simultaneamente una revisione.

5.9. Polimorfismo

5.9.	Polimorfismo.....	781
------	-------------------	-----

5.9. POLIMORFISMO

Il polimorfismo (o polimorfismo cristallino) è l'attitudine di un composto allo stato solido di presentarsi in più forme cristalline tra loro diverse ma aventi tutte la stessa composizione chimica.

Le sostanze che allo stato solido presentano una forma non-cristallina sono dette essere amorfe.

Quando questo fenomeno si osserva per un elemento chimico (per esempio, zolfo), si usa il termine allotropia invece di polimorfismo.

Il termine di pseudopolimorfismo viene utilizzato per descrivere i solvati (incluso gli idrati), dove nella matrice del cristallo è presente un solvente in proporzioni stechiometriche; il termine può anche essere esteso per includere composti dove il solvente è inglobato nella matrice in proporzioni variabili. Tuttavia il termine "pseudopolimorfismo" è ambiguo a causa del suo uso in circostanze diverse. Si preferisce pertanto usare solo i termini "solvati" e "idrati".

Quando una monografia indica che una sostanza presenta polimorfismo, si può trattare di un vero polimorfismo cristallino, di presenza di solvati, di allotropia o presenza di una forma amorfa.

L'identità della composizione chimica implica che tutte le forme cristalline e la forma amorfa di una data specie presentino lo stesso comportamento chimico in soluzione o allo stato fuso; al contrario le loro caratteristiche fisico-chimiche e fisiche (solubilità, durezza, compressibilità, densità, punto di fusione ecc.) e pertanto la loro reattività e la loro biodisponibilità possono essere differenti allo stato solido.

Quando un composto presenta polimorfismo, la forma per la quale l'entalpia libera è minore ad una data temperatura e pressione è la più stabile termodinamicamente. Le altre forme sono dette essere in uno stato metastabile. A condizioni normali di temperatura e pressione una forma allo stato metastabile può restare invariata o può presentare una transizione verso una forma termodinamicamente più stabile.

Se esistono più forme cristalline, una di queste forme è termodinamicamente più stabile ad una data temperatura e pressione. Una data forma cristallina può costituire una fase che può raggiungere l'equilibrio con altre fasi solide e con le fasi liquide e gassosa.

Se ciascuna forma cristallina è la più stabile entro un dato intervallo di temperatura, il passaggio da una forma all'altra è reversibile e in questo caso la transi-

zione è detta essere enantiotropica. Il passaggio da una fase all'altra è un equilibrio monovariante così che a una data pressione questo stato è caratterizzato da una temperatura detta temperatura di transizione. Tuttavia, se solo una delle forme è stabile nell'intero intervallo di temperatura, la transizione è irreversibile o monotropica.

Le differenti forme cristalline o solvati possono essere ottenute variando le condizioni di cristallizzazione (temperatura, pressione, solvente, concentrazione, velocità di cristallizzazione, insemminazione del mezzo di cristallizzazione, presenza e concentrazione di impurezze, ecc).

Per studiare il polimorfismo possono essere usate le seguenti tecniche:

- diffrazioni dei raggi X delle polveri (2.9.33.),
- diffrazioni dei raggi X dei singoli cristalli,
- analisi termica (2.2.34.) (calorimetria differenziale a scansione, termogravimetria, termomicroscopia),
- microcalorimetria,
- analisi dell'assorbimento di acqua,
- microscopia ottica ed elettronica,
- risonanza magnetica nucleare dello stato solido,
- spettrometria di assorbimento nell'infrarosso (2.2.24.),
- spettrometria Raman (2.2.48.),
- misura della solubilità e della velocità intrinseca di dissoluzione,
- misura della densità.

Queste tecniche sono sovente complementari ed è indispensabile usarne diverse di esse.

I diagrammi pressione/temperatura ed energia/temperatura basati su dati analitici sono strumenti utili per conoscere le relazioni energetiche (enantiotropismo, monotropismo) e la stabilità termodinamica di ogni modificazione di un composto polimorfo.

Nel caso dei solvati, sono preferite l'analisi calorimetrica differenziale e la termogravimetria associate con misure della solubilità, velocità della dissoluzione intrinseca e diffrazione dei raggi-X.

Nel caso degli idrati, si determinano le isoterme assorbimento/desorbimento dell'acqua per dimostrare le zone di stabilità relativa.

In generale, gli idrati sono meno solubili in acqua rispetto alle forme anidre, come i solvati sono meno solubili nel loro solvente rispetto alle forme non solvate.

5.10. Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico

5.10.	Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico.	785
-------	---	-----

5.10. CONTROLLO DELLE IMPUREZZE NELLE SOSTANZE PER USO FARMACEUTICO

PREAMBOLO

Le monografie della Farmacopea Europea sulle sostanze per uso farmaceutico hanno come obiettivo quello di assicurare agli utilizzatori delle stesse sostanze una loro qualità accettabile.

Il ruolo che la Farmacopea gioca in materia di protezione della salute pubblica richiede che tali monografie permettano un controllo adeguato delle impurezze. La qualità richiesta è basata su considerazioni scientifiche, tecniche e regolatorie.

I requisiti relativi alle impurezze sono riportati nelle monografie specifiche e nella monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*, monografie tra loro complementari: le monografie specifiche prescrivono i criteri di accettazione per le impurezze mentre la monografia generale definisce le esigenze relative alla qualificazione, identificazione e dichiarazione delle impurezze organiche eventualmente presenti nelle sostanze attive.

Le soglie di dichiarazione, identificazione e qualificazione riportate nella monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* si applicano a tutte le sostanze correlate. Tuttavia se una monografia non contiene un saggio per le sostanze correlate basato su un metodo quantitativo, qualunque nuova impurezza presente al di sopra di una delle soglie può non essere evidenziata in quanto il saggio non ne permette la determinazione.

Quanto previsto nella sezione Sostanze correlate della monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*, in particolare le soglie di dichiarazione, identificazione e qualificazione, non si applica agli eccipienti; sono anche esclusi i prodotti biologici e biotecnologici, i peptidi, gli oligonucleotidi, i prodotti radiofarmaceutici, i prodotti di fermentazione ed i prodotti semisintetici da essi derivati, i prodotti a base di droghe vegetali ed i prodotti grezzi di origine animale o vegetale. Sebbene le soglie riportate nella monografia generale non si applicano, i concetti generali relativi alla dichiarazione, identificazione (per quanto possibile) e qualificazione delle impurezze sono egualmente validi per tali classi di sostanze.

Basi per la elaborazione delle monografie della Farmacopea Europea.

Le monografie della Farmacopea Europea sono elaborate per le sostanze presenti nei prodotti medicinali autorizzati dalle autorità competenti dei Paesi firmatari

della *Convenzione relativa alla elaborazione di una Farmacopea Europea*. Conseguentemente queste monografie non coprono tutte le fonti, ovvero i luoghi di origine, delle sostanze per uso farmaceutico presenti nel mercato mondiale.

Le impurezze organiche ed inorganiche presenti in quelle sostanze che sono state valutate dalle autorità competenti sono qualificate, rispetto alla sicurezza d'uso, al contenuto massimo autorizzato (per la dose massima giornaliera) a meno che nuovi dati posteriori alla valutazione sulla sicurezza d'uso ne giustifichino dei limiti più bassi.

Le monografie della Farmacopea Europea sulle sostanze per uso farmaceutico vengono elaborate da gruppi di esperti e gruppi di lavoro in collaborazione con le autorità nazionali di farmacopea, le autorità competenti per l'autorizzazione all'immissione al commercio, con i laboratori nazionali di controllo ed il laboratorio della Farmacopea Europea; sono anche assistiti dai produttori delle sostanze e/o dai fabbricanti di prodotti farmaceutici che utilizzano tali sostanze.

Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico.

La qualità delle sostanze, per quel che riguarda le impurezze, è controllata da un insieme di saggi prescritti nelle monografie. Questi saggi riguardano le impurezze organiche ed inorganiche rilevanti in connessione con la fonte di provenienza delle sostanze attive contenute nei prodotti medicinali autorizzati.

Il controllo dei solventi residui è l'oggetto delle disposizioni contenute nella monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* e nel capitolo generale 5.4 *Solventi residui*. Il certificato di adeguatezza di una monografia della Farmacopea Europea indica, per una sostanza di una precisa fonte di provenienza, i solventi residui che sono controllati insieme ai criteri di accettazione specificati ed il metodo di controllo convalidato qualora questo differisca da quelli descritti nel capitolo generale 2.4.24 *Identificazione e controllo dei solventi residui*.

Le monografie delle sostanze chimiche organiche di norma hanno un saggio dal titolo "Sostanze correlate" che riguarda impurezze organiche pertinenti.

A questi saggi possono essere aggiunti altri saggi specifici nel caso in cui il saggio generale non controlla una data impurezza o quando dei motivi particolari (per esempio ragioni connesse alla sicurezza d'uso) giustificano di prescrivere un controllo speciale.

Quando una monografia non contiene il saggio "Sostanze correlate" (o equivalente) ma solamente dei

saggi specifici, l'utilizzatore di una sostanza deve comunque assicurarsi che il controllo delle impurezze organiche è adeguato; quelle il cui tenore è superiore alla soglia di identificazione devono essere identificate (nella misura possibile) e quelle il cui tenore è superiore alla soglia di qualificazione debbono, salvo giustificazione, essere qualificate (vedi anche la sezione "Raccomandazioni agli utilizzatori delle monografie di sostanze attive").

Nel caso in cui una monografia controlli sostanze caratterizzate da profili di impurezze diversi, si può avere sia un singolo saggio per le sostanze correlate che copra tutte le impurezze menzionate nella sezione Impurezze sia un insieme di saggi che permettano il controllo di tutti i profili di impurezze. E' allora possibile verificare la conformità alla monografia applicando solamente quei saggi che sono pertinenti al profilo di impurezza noto per la fonte di provenienza della sostanza. Alcune istruzioni per il controllo delle impurezze possono essere incluse nella sezione Produzione di una monografia, per esempio quando il solo metodo analitico appropriato per il controllo di una data impurezza deve essere effettuato dal produttore in quanto il metodo è tecnicamente troppo complesso per essere di uso generale o non può essere applicato alla sostanza farmaceutica finale e/o quando la convalida del processo di produzione (inclusa la fase di purificazione) costituisce una garanzia di controllo sufficiente.

Sezione Impurezze nelle monografie sulle sostanze attive.

La sezione Impurezze di una monografia riporta la lista delle impurezze (con la struttura e la denominazione chimica quando possibile), generalmente organiche, che sono rivelate dai saggi prescritti nella monografia stessa. Questa informazione è basata sui dati disponibili al momento della elaborazione o della revisione della monografia e non è necessariamente esaustiva.

La sezione comprende le impurezze specificate e, quando indicato, le altre impurezze rivelabili.

Le *impurezze specificate* hanno un criterio di accettazione non più grande di quello autorizzato dalle autorità competenti.

Le *altre impurezze rivelabili* sono delle impurezze potenziali con una struttura definita ma normalmente non presenti, al di sopra della soglia di identificazione, nelle sostanze usate nei prodotti medicinali che sono stati autorizzati dalle autorità competenti dei Paesi firmatari della Convenzione. Vengono riportate nella sezione Impurezze per informazione.

Nel caso in cui in una sostanza attiva viene trovata una impurezza diversa dalle impurezze specificate è respon-

sabilità dell'utilizzatore della sostanza verificare se tale impurezza deve essere identificata/qualificata tenendo conto del suo contenuto, natura, dose massima giornaliera, soglia di identificazione/qualificazione in accordo con la monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* sezione Sostanze correlate.

Per le sostanze che hanno esclusivo uso veterinario vengono applicate delle soglie specifiche.

Interpretazione del saggio per le sostanze correlate nelle monografie sulle sostanze attive.

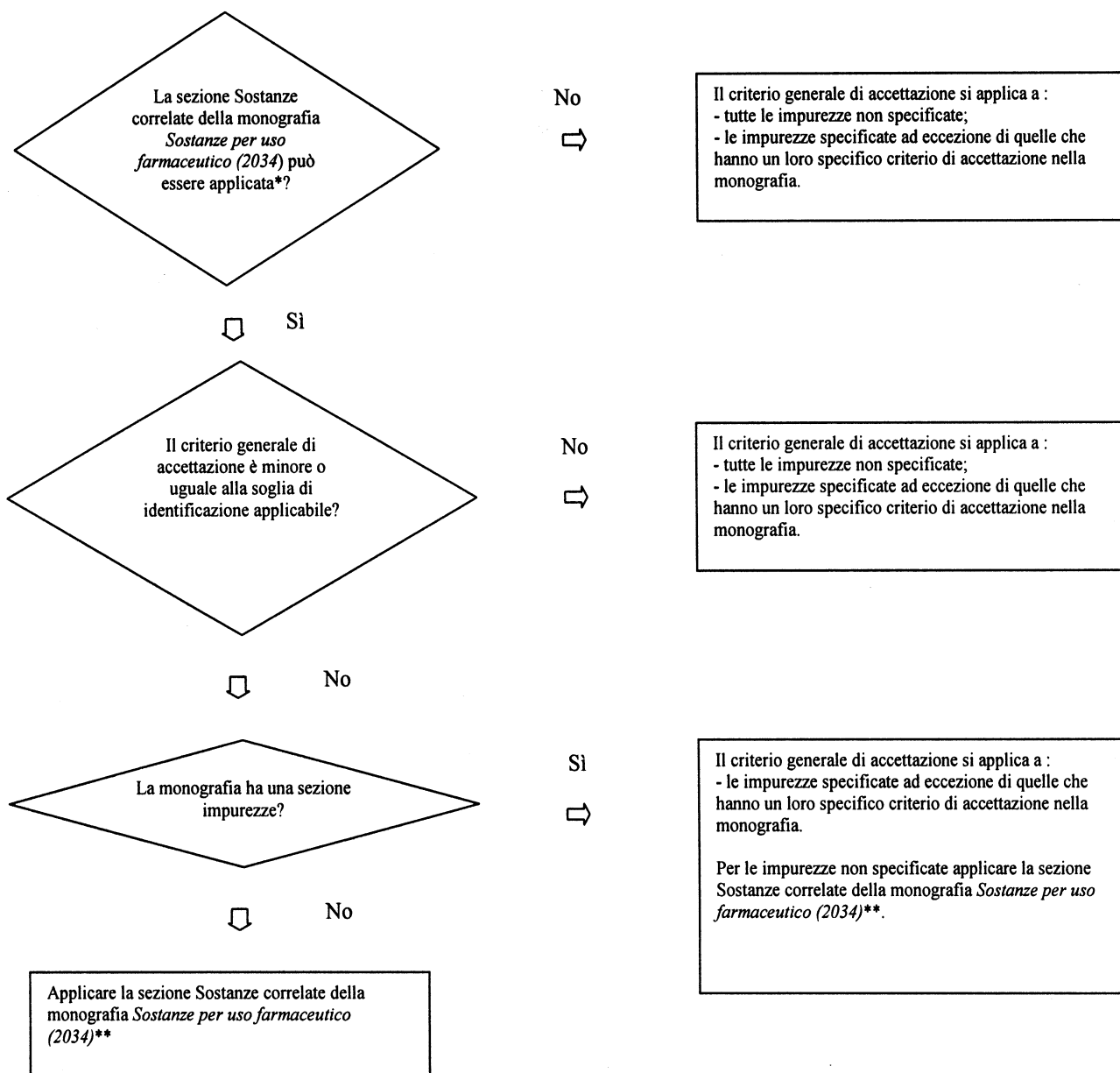
Una monografia specifica su una sostanza per uso farmaceutico deve essere letta e interpretata congiuntamente con la monografia generale sulle *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*.

Quando per le impurezze ("qualunque altra impurezza", "altre impurezze", "qualunque impurezza") è prescritto un criterio di accettazione generale che equivale ad un contenuto nominale superiore alla soglia di identificazione applicabile per la sostanza considerata (vedi *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*), questo limite si applica unicamente alle impurezze specificate menzionate nella sezione Impurezze.

Se sono presenti altre impurezze è opportuno determinare, alla luce delle disposizioni della monografia generale, se è necessario identificarle (nella misura possibile), dichiararle, specificarle e qualificarle. L'utilizzatore della sostanza ha la responsabilità di determinare la validità dei criteri di accettazione per le impurezze non riportate nella sezione Impurezze o citate come "altre impurezze rivelabili".

I criteri di accettazione per il saggio delle sostanze correlate sono presentati in modi differenti all'interno delle monografie esitenti; l'albero decisionale (Figura 5.10.-1) può essere d'aiuto nell'interpretazione dei criteri generali di accettazione e della loro correlazione con la sezione Impurezze della monografia.

I criteri generali di accettazione per le "altre" impurezze sono espressi in vari modi all'interno delle monografie: "ogni altra impurezza", "altre impurezze", "ogni impurezza", "ogni macchia", "ogni banda", etc. I criteri generali di accettazione si possono applicare sia unicamente a certe impurezze specificate, sia alle impurezze non specificate e a certe impurezze specificate, in relazione alla natura della sostanza attiva e alla soglia di identificazione applicabile. In attesa di un adattamento editoriale delle monografie già pubblicate, al fine di eliminare le ambiguità di terminologia, l'albero decisionale (Figura 5.10.-1) può essere usato per determinare il criterio di accettazione che deve essere applicato.



*I requisiti di questa sezione si applicano alle sostanze attive, con l'eccezione di: prodotti biologici e biotecnologici; peptidi; oligonucleotidi; prodotti radiofarmaceutici; prodotti di fermentazione e prodotti semisintetici da essi derivati; prodotti grezzi di origine animale o vegetale; prodotti a base di piante.

**Per applicare la sezione Sostanze correlate della monografia *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*:

- deve essere definito un criterio individuale di accettazione per ogni impurezza che può essere presente sopra la soglia di identificazione;
- deve essere possibile identificare ogni impurezza con un criterio di accettazione superiore alla soglia di identificazione;
- ogni impurezza con un criterio di accettazione superiore alla soglia di qualificazione deve essere qualificata.

Figura 5.10.-1. - Albero decisionale per l'interpretazione dei criteri generali di accettazione per le "altre impurezze" all'interno delle monografie

Raccomandazioni agli utilizzatori delle monografie delle sostanze attive.

Le monografie danno delle specifiche atte a garantire una adeguata qualità delle sostanze con profili di impurezze corrispondenti a quelli presi in considerazione durante l'elaborazione/revisione delle monografie stesse. È responsabilità dell'utilizzatore di una sostanza verificare che la monografia permetta un controllo adeguato delle impurezze per una sostanza per uso farmaceutico di una data fonte, ovvero luogo di origine, specialmente mediante l'uso della procedura di certificazione di adeguatezza delle monografie della Farmacopea Europea.

Una monografia con un saggio per le sostanze correlate basato su un metodo quantitativo (come cromatografia liquida, gas cromatografia ed elettroforesi capillare) garantisce un adeguato controllo delle impurezze, per una sostanza di una data fonte, se le impurezze presenti in quantità superiore alla soglia di identificazione applicabile sono delle impurezze specificate riportate nella sezione Impurezze.

Se la sostanza contiene impurezze diverse da quelle menzionate nella sezione Impurezze è necessario verificare che tali impurezze siano rivelabili mediante il metodo descritto nella monografia. In caso contrario dovrà essere sviluppato un nuovo metodo e dovrà richiedersi la revisione della monografia.

Dovrà essere considerata l'identificazione e/o la qualificazione di queste impurezze in base ai contenuti trovati ed ai limiti proposti.

Quando un solo saggio sulle sostanze correlate copre diversi profili di impurezze, dovranno essere riportate nel certificato di analisi solo le impurezze pertinenti al profilo noto associato ad una specifica fonte della sostanza, a meno che il detentore della autorizzazione al commercio non utilizzi delle sostanze attive che hanno differenti profili di impurezze.

Identificazione delle impurezze (assegnazione dei picchi).

Quando una monografia ha un limite singolo per una impurezza, è spesso necessario definire un mezzo per l'identificazione di tale impurezza, per esempio mediante una sostanza di riferimento, un cromatogramma rappresentativo o la ritenzione relativa.

L'utilizzatore della sostanza può trovare necessario identificare delle impurezze diverse da quelle per le quali la monografia fornisce un mezzo di identificazione come ad esempio nel caso in cui si vuole verificare l'applicabilità della specifica per un dato profilo di

impurezze in confronto con la sezione Impurezze. A tale riguardo la Farmacopea Europea non fornisce sostanze di riferimento, cromatogrammi rappresentativi o informazioni sulle ritenzioni relative oltre quanto riportato nella monografia. Gli utilizzatori dovranno perciò applicare le tecniche scientifiche di identificazione al momento disponibili.

Nuove impurezze. Impurezze specificate al di sopra del limite specificato.

Quando un nuovo processo di fabbricazione o una modifica ad un processo consolidato dà luogo alla formazione di una nuova impurezza e necessario applicare quanto disposto dalla monografia *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* in relazione alla identificazione e qualificazione e verificare l'adeguatezza della monografia al controllo della nuova impurezza.

Il certificato di adeguatezza costituisce uno strumento che conferma, per una sostanza di una data fonte, che la nuova impurezza è adeguatamente controllata o che propone un metodo di controllo con un criterio di accettazione definito. In questo secondo caso dovrà essere iniziato il processo di revisione della monografia.

Qualora un nuovo processo di fabbricazione o una modifica ad un processo consolidato dia luogo alla formazione di una impurezza specificata in quantità superiore al limite specificato, e necessario applicare quanto previsto dalla monografia *Sostanze per uso farmaceutico (2034)* in relazione alla qualificazione.

Metodi cromatografici.

Il capitolo generale 2.2.46 *Tecniche di separazione cromatografica* tratta i vari aspetti del controllo delle impurezze.

Sono comunque disponibili nel sito Web del EDQM (www.pheur.org) informazioni sul nome commerciale delle colonne, altri reattivi ed apparecchiature trovate utili durante la elaborazione delle monografie.

GLOSSARIO

Altre impurezze rivelabili: impurezze potenziali con struttura definita rivelabili mediante i saggi della monografia ma che non sono normalmente presenti al di sopra della soglia di identificazione nelle sostanze usate per i prodotti medicinali autorizzati dalle competenti autorità dei Paesi firmatari della Convenzione.

Sono impurezze non specificate e vengono pertanto limitate mediante un criterio di accettazione generale.

Concentrazione nominale: la concentrazione di una impurezza calcolata sulla base della concentrazione della soluzione di riferimento prescritta e tenendo conto del fattore di correzione prescritto.

Impurezza: qualunque componente la sostanza per uso farmaceutico diverso dalla entità chimica definita come sostanza.

Impurezza identificata: una impurezza per la quale è stata ottenuta una caratterizzazione strutturale.

Impurezza non identificata: impurezza le cui caratteristiche strutturali non sono state definite e che viene definita unicamente mediante proprietà analitiche qualitative (ad esempio, ritenzione relativa).

Impurezza non specificata: impurezza limitata da un criterio di accettazione generale e non individualmente riportata con il suo criterio di accettazione specifico.

Impurezza potenziale: una impurezza che teoricamente può formarsi nel processo di fabbricazione o durante la conservazione. Può o non può essere effettivamente presente nella sostanza.

Quando è noto che una impurezza potenziale rivelata dai saggi della monografia non è normalmente presente nelle sostanze usate per i prodotti medicinali autorizzati dalle competenti autorità dei Paesi firmatari della Convenzione, essa verrà inclusa, per informazione, nella sezione Impurezze sotto la voce *Altre impurezze rivelabili*.

Impurezza specificata: una impurezza che in una monografia è individualmente elencata e limitata con uno specifico criterio di accettazione. Una impurezza specificata può essere sia identificata che non identificata.

Limite di esclusione: contenuto nominale al quale o al di sotto del quale, nei saggi cromatografici, i picchi/i segnali non sono presi in considerazione per il calcolo della somma delle impurezze. I valori numerici del limite di esclusione e della soglia di dichiarazione sono generalmente gli stessi.

Qualificazione: il processo di acquisizione e di valutazione dei dati che permettono di stabilire la “sicurezza biologica” di una singola impurezza, o di un profilo di impurezze, al livello(i) specificato(i).

Soglia di dichiarazione: il limite al di sopra del quale una impurezza deve essere dichiarata. Sinonimo: livello di dichiarazione.

Soglia di identificazione: il limite al di sopra del quale una impurezza deve essere identificata.

Soglia di qualificazione: il limite al di sopra del quale una impurezza deve essere qualificata.

Sostanze correlate: il titolo usato nelle monografie per i saggi generali relativi alle impurezze organiche.

5.11. Sezione Caratteri nelle monografie

5.11. Sezione Caratteri nelle monografie 793

5.11. SEZIONE CARATTERI NELLE MONOGRAFIE

Le Prescrizioni Generali riportano che le indicazioni incluse nella sezione Caratteri non devono essere interpretate in senso stretto e non costituiscono dei requisiti. A titolo di informazione per gli utilizzatori, sono riportati di seguito i metodi raccomandati degli autori delle monografie, come basi per le indicazioni riguardanti l'igroscopicità, la cristallinità e la solubilità.

IGROSCOPICITÀ

Questo metodo deve essere applicato su sostanze che soddisfano al saggio per la perdita all'essiccamento o acqua della monografia. Il metodo fornisce una indicazione del grado di igroscopicità delle sostanze più che una vera determinazione.

Utilizzare un recipiente da pesata di vetro avente un diametro esterno di 50 mm e un'altezza di 15 mm. Pesare il recipiente ed il suo coperchio (m_1). Introdurre la quantità di sostanza prescritta per il saggio di perdita per essiccamento o di acqua, e pesare di nuovo (m_2). Collocare il recipiente scoperto in un essiccatore appropriato contenente una soluzione satura di cloruro di ammonio o di solfato di ammonio, a 25 °C oppure in un armadio climatizzato regolato a 25 ± 1 °C e ad una umidità relativa di 80 ± 2 per cento. Lasciar riposare per 24 h.

Chiudere il recipiente di pesata e pesare (m_3).

Calcolare l'aumento percentuale di massa usando l'espressione seguente:

$$\frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1} \times 100$$

Il risultato è interpretato come indicato di seguito:

- *deliquescente*: assorbimento sufficiente di acqua per formare un liquido,
- *molto igroscopica*: aumento della massa uguale o superiore al 15 per cento,
- *igroscopica*: aumento della massa inferiore al 15 per cento e uguale o superiore al 2 per cento,
- *leggermente igroscopica*: aumento della massa inferiore al 2 per cento e uguale o superiore allo 0,2 per cento.

CRISTALLINITÀ

Questo metodo viene utilizzato per stabilire la natura cristallina o amorfa di una sostanza.

Su di una appropriata lastra di vetro pulita, collocare qualche particella della sostanza in esame in olio minerale. Esaminare al microscopio polarizzatore. Le particelle cristalline presentano birifrangenza e si osservano posizioni di estinzione per rotazione della lastra.

SOLUBILITÀ

La quantità massima di sostanza richiesta per questo saggio è di 111 mg (per ogni solvente) e il volume massimo di solvente di 30 ml.

Procedimento di dissoluzione

Agitare energicamente per 1 min, collocare in un sistema termostato a una temperatura di $25,0 \pm 0,5$ °C per 15 min. Se la dissoluzione della sostanza non è completa, ripetere l'agitazione per 1 min e collocare il tubo di nuovo nel sistema termostato per 15 min.

Metodo

In un tubo con tappo a smeriglio (16 mm×160 mm), pesare 100 mg di sostanza finemente polverizzata (90) (2.9.12). Aggiungere 0,1 ml di solvente e procedere come descritto in Procedimento di dissoluzione. Se la dissoluzione è completa, la sostanza è *solubilissima*.

Se la dissoluzione è incompleta, aggiungere 0,9 ml di solvente e procedere come descritto in Procedimento di dissoluzione. Se la dissoluzione è completa, la sostanza è *molto solubile*.

Se la dissoluzione è incompleta, aggiungere 2,0 ml di solvente e procedere come descritto in Procedimento di dissoluzione. Se la dissoluzione è completa, la sostanza è *solubile*.

Se la dissoluzione è incompleta, aggiungere 7,0 ml di solvente e procedere come descritto in Procedimento di dissoluzione. Se la dissoluzione è completa, la sostanza è *moderatamente solubile*.

Se la dissoluzione è incompleta, pesare 10 mg di sostanza finemente polverizzata (90) (2.9.12) in un tubo con tappo a smeriglio, aggiungere 10,0 ml di solvente e procedere come descritto in Procedimento di dissoluzione. Se la dissoluzione è completa, la sostanza è *poco solubile*.

Se la dissoluzione è incompleta, pesare 1 mg di sostanza finemente polverizzata (90) (2.9.12) in un tubo con tappo a smeriglio, aggiungere 10,0 ml di solvente e procedere come descritto in Procedimento di dissoluzione. Se la dissoluzione è completa, la sostanza è *molto poco solubile*.

5.12. Standard di riferimento

5.12.	Standard di riferimento	797
-------	-----------------------------------	-----

5.12. STANDARD DI RIFERIMENTO

Questo capitolo è pubblicato solo per informazione.

1. INTRODUZIONE

In questo capitolo il termine ‘Standard di riferimento’ è utilizzato come termine generale per le sostanze di riferimento, le preparazioni di riferimento e gli spettri di riferimento.

Gli standard di riferimento sono spesso necessari per conseguire un adeguato controllo della qualità di sostanze per uso farmaceutico e di preparazioni farmaceutiche

Gli standard di riferimento sono definiti impiegando adatte procedure e la loro continua idoneità all’uso è monitorata secondo un programma prefissato. Quando è necessario l’uso di uno standard di riferimento, esso è parte integrante della monografia di farmacopea o delle specifiche del fabbricante. Quando in una monografia o in un capitolo generale ci si riferisce ad uno standard di riferimento della Farmacopea Europea, questo rappresenta lo standard ufficiale che è il solo ad essere valido in caso di dubbio o di controversia.

I materiali di riferimento ed i materiali di riferimento certificati sono definiti più sotto ma non sono ulteriormente trattati in questo capitolo.

In molte parti del capitolo vengono fornite dettagliate informazioni per le sostanze chimiche di riferimento, ma non per le preparazioni biologiche di riferimento. I principi generali forniti si applicano ugualmente alle preparazioni biologiche di riferimento, ma, in considerazione della loro natura eterogenea e della loro frequente complessità in confronto alle sostanze chimiche di riferimento, questo capitolo non comprende informazioni relative alla loro utilizzazione, alla loro definizione ed ai programmi di rianalisi che a loro si applicano. Nel caso di standard di riferimento di peptidi e proteine per certi aspetti, specialmente per definire un contenuto dichiarato, viene utilizzato un approccio specifico; questo capitolo non tratta di questo approccio.

2. TERMINOLOGIA

Standard primario. Uno standard che presenta caratteristiche adeguate all’uso considerato; la dimostrazione della sua idoneità è stata ottenuta senza confrontarlo con uno standard esistente.

Standard secondario. Uno standard definito per confronto con uno standard primario.

Standard internazionale. Uno standard internazionale è uno standard primario che definisce una Unità Internazionale. L’equivalenza di uno standard internazionale in Unità Internazionali è definita dalla Organizzazione Mondiale della Sanità.

Standard di riferimento della Farmacopea Europea. Uno standard definito sotto l’egida ed approvato dalla Commissione della Farmacopea Europea.

Sostanza Chimica di Riferimento della Farmacopea Europea (SCR). Una sostanza o miscela di sostanze destinate ad essere utilizzate secondo le indicazioni di una monografia o di un capitolo generale della Farmacopea Europea. Le Sostanze Chimiche di Riferimento della Farmacopea Europea sono standard primari, con l’eccezione di quelle (specialmente antibiotici) che sono standardizzate in Unità Internazionali. Queste ultime sono standard secondari ricollegabili allo standard internazionale.

Preparazioni Biologiche di Riferimento della Farmacopea Europea (PBR). Una sostanza, o miscela di sostanze, destinata ad essere utilizzata secondo le indicazioni di una monografia o di un capitolo generale della Farmacopea Europea. Le Preparazioni Biologiche di Riferimento della Farmacopea Europea sono sia standard secondari standardizzati in Unità Internazionali che standard primari che possono servire a definire una Unità della Farmacopea Europea. Possono essere utilizzate anche altre unità di misura, ad esempio, il titolo in virus o il numero di batteri.

Materiali di Riferimento (MR). Un materiale o una sostanza della quale i valori di una o più proprietà sono sufficientemente omogenei e ben definiti da poter essere utilizzati per la calibrazione di uno strumento, la valutazione di un metodo di misura o per l’attribuzione di un contenuto ai materiali.

Materiale di Riferimento Certificato (MRC). Un materiale di riferimento (accompagnato da un certificato) del quale i valori di una o più caratteristiche sono certificati per mezzo di una procedura che definisce la sua tracciabilità nei confronti di una accurata realizzazione dell’unità con la quale i valori della proprietà sono espressi, e per la quale ciascun valore certificato è accompagnato da una incertezza ad un definito livello di confidenza.

NOTA: gli standard di riferimento delle farmacopee devono essere distinti dai materiali di riferimento e dai materiali di riferimento certificati che possono essere usati a fini quantitativi in differenti contesti impiegando diverse tecniche analitiche. L’uso di materiali di riferimento è richiesto o raccomandato in numerose

monografie e capitoli generali della farmacopea, soprattutto per la calibrazione o la verifica della soddisfacente prestazione di strumenti.

La specificità degli standard di riferimento della farmacopea è stata ufficialmente riconosciuta nella introduzione della Guida ISO 34 - *General requirements for the competence of reference material producers (Second Edition 2000)*: "Gli standard e le sostanze di farmacopea sono caratterizzate e distribuite dalle autorità di farmacopea seguendo i principi generali di questa guida. Bisogna notare, comunque, che le autorità di farmacopea utilizzano un approccio diverso per dare all'utilizzatore le informazioni riportate dal certificato di analisi e le date di scadenza. Inoltre, l'incertezza relativa dei valori loro assegnati non è indicata poiché essa è irrilevante in relazione ai limiti definiti per i dosaggi secondo i metodi specifici di farmacopea per i quali sono utilizzati".

3. USO DEGLI STANDARD DI RIFERIMENTO

Gli standard di riferimento vengono utilizzati per l'identificazione, la verifica della purezza ed il dosaggio di sostanze per uso farmaceutico o di preparazioni farmaceutiche. E' dimostrato che le sostanze di riferimento sono adatte all'uso al quale sono destinate; non sono necessariamente adatte per altri scopi. Se una sostanza di riferimento deve essere utilizzata per uno scopo diverso da quello per il quale è stata definita, la sua idoneità al nuovo impiego deve essere totalmente dimostrata. Ogni valore attribuito ad uno standard di riferimento è valido per l'uso previsto e non necessariamente per altri usi.

Uno standard di riferimento della Farmacopea Europea, avente un contenuto assegnato e destinato al dosaggio di una sostanza per uso farmaceutico, può essere adatto per determinare il contenuto di quella sostanza in una preparazione farmaceutica quando sono soddisfatte le seguenti condizioni:

- il metodo cromatografico di dosaggio utilizzato è quello descritto nella monografia della sostanza attiva;
- l'utilizzatore verifica l'applicabilità del metodo alla preparazione farmaceutica considerata (assenza di interferenze);
- tutti i pretrattamenti del campione (ad esempio, l'estrazione) sono convalidati per la preparazione farmaceutica considerata;
- l'utilizzo è approvato dall'autorità competente.

Standard di riferimento sono definiti anche per la determinazione del contenuto dei componenti di droghe

vegetali e di preparazioni a base di droghe vegetali. Questi possono essere: il principio attivo stesso; componenti marcatori utilizzati per la quantificazione; o estratti. Gli standard di riferimento sotto forma di estratti sono definiti utilizzando campioni ben caratterizzati dei principi attivi o dei componenti marcatori.

La politica della Farmacopea Europea è quella di fornire standard di riferimento in quantità adeguata destinata all'uso immediato dopo l'apertura del contenitore. E' responsabilità dell'analista l'impiego in altre condizioni. Se un contenitore non è stato aperto ed è conservato nelle condizioni raccomandate, rimane idoneo all'uso, fino a che fa parte del lotto in vigore. Informazioni sul numero del lotto in vigore sono fornite nel catalogo degli standard di riferimento disponibile presso il Direttorato Europeo per la Qualità dei Medicinali (Consiglio d'Europa).

Non è consigliabile la conservazione di soluzioni di standard di riferimento, salvo che l'utilizzatore non ne dimostri l'idoneità.

Standard secondari. Uno standard secondario può essere utilizzato per il controllo routinario di qualità in tutti gli impieghi descritti sopra per gli standard primari, a condizione che esso sia stato definito per confronto con uno standard primario. Uno standard secondario è definito ed utilizzato per ridurre l'uso dello standard primario, che richiede una caratterizzazione ed una valutazione più approfondita e che può essere disponibile solo in quantità limitate. Uno standard secondario viene utilizzato solo per lo stesso scopo previsto per lo standard primario, in rapporto al quale è stato definito

4. DEFINIZIONE DEGLI STANDARD DI RIFERIMENTO

4-1. STANDARD PRIMARIO

Una sostanza o una preparazione destinata alla definizione (ovvero alla realizzazione) di uno standard primario viene caratterizzata per mezzo di una varietà di tecniche analitiche scelte per dimostrare la sua idoneità all'uso.

Per le sostanze per uso farmaceutico e le loro impurezze vengono impiegate le parti pertinenti del seguente programma di saggi.

- Caratterizzazione della sostanza (delucidazione della struttura) per mezzo di appropriati attributi chimici come la formula di struttura, la formula empirica, la massa molecolare. Tra le tecniche che si possono impiegare figurano:

- la spettrometria di risonanza magnetica nucleare;

- la spettrometria di massa;
 - la spettrofotometria infrarossa;
 - l'analisi elementare.
- Determinazione della purezza:
- determinazione del contenuto di impurezze organiche, per mezzo di idonea tecnica di separazione o di un metodo spettrometrico, dove applicabile;
 - determinazione quantitativa dell'acqua;
 - determinazione del contenuto in solventi residui;
 - determinazione della perdita all'essiccamento, che può in certi casi, sostituire la determinazione dell'acqua e dei solventi residui;
 - determinazione delle impurezze inorganiche (saggio per metalli pesanti, ceneri solforiche, spettrometria atomica, spettrometria a plasma accoppiato induttivamente, fluorescenza a raggi X); i risultati ottenuti non servono per determinare un contenuto assegnato salvo non abbiano un impatto apprezzabile su quest'ultimo;
 - determinazione della purezza mediante un metodo assoluto (per esempio calorimetria differenziale a scansione o analisi di solubilità di fase nei casi appropriati; i risultati di queste determinazioni sono utilizzati per supportare e confermare i risultati ottenuti con tecniche di separazione; non vengono utilizzati per il calcolo del valore attribuito).

Nel caso di una sostanza chimica di riferimento primario definita per il dosaggio, il contenuto assegnato viene generalmente calcolato dai risultati delle analisi eseguite per la determinazione delle impurezze (organiche, inorganiche, acqua e solventi) applicando il principio del bilancio di massa; si utilizzano anche altri appropriati procedimenti.

Un rapporto di definizione relativo allo standard di riferimento è preparato ed approvato dalla persona qualificata.

4-2. STANDARD DI RIFERIMENTO DELLA FARMACOPA EUROPEA

Gli standard proposti sono analizzati con l'impiego di una grande varietà di metodi analitici. La gamma dei saggi ed il numero di laboratori coinvolti dipende dall'uso dello standard di riferimento. Se non altrimenti giustificato, è generalmente richiesta la conformità alla corrispondente monografia.

Se durante la definizione è condotto uno studio collaborativo, a ciascun partecipante viene fornito un proto-

collo e solo i risultati validi ottenuti secondo il protocollo vengono utilizzati per stabilire un valore assegnato o confermare la idoneità.

Per le sostanze chimiche di riferimento, si applicano le parti pertinenti del seguente programma.

4-2-1. Identificazione. In generale, è utilizzabile un lotto selezionato dalla normale produzione della sostanza. Si verifica che soddisfi ai requisiti della monografia; sul primo lotto si esegue una completa delucidazione della struttura.

4-2-2. Saggio delle sostanze correlate. Uno standard di riferimento corrispondente ad una impurezza viene caratterizzato per identità e purezza. Se uno standard di riferimento deve essere impiegato per determinare il contenuto di una data impurezza, il contenuto minimo è, preferibilmente, del 95,0 per cento; se è raggiunto questo contenuto, non si assegna alcun valore ed il contenuto è considerato uguale al 100,0 per cento; questa approssimazione è accettabile perché essa non avrà una apprezzabile influenza sulla determinazione della impurezza. Quando questo valore minimo del contenuto non può essere ottenuto, allo standard viene attribuito un dato contenuto.

Se una impurezza non è disponibile in quantità sufficiente per preparare uno standard di riferimento, esistono altre possibili opzioni :

- la preparazione di uno standard di riferimento contenente una miscela del/dei composto /i e la/e impurezza/e.
- la preparazione di uno standard di riferimento contenente una miscela di impurezze specificate.

Se questa miscela viene utilizzata anche per determinare il contenuto di una data impurezza, il contenuto dell'impurezza nello standard di riferimento viene determinato con adatti metodi di separazione ed allo standard di riferimento viene attribuito un valore.

4-2-3. Dosaggio.

4-2-3-1. Dosaggio chimico. Se uno standard di riferimento deve servire per la determinazione quantitativa di una sostanza attiva o di un eccipiente (standard per il dosaggio) i controlli sono più approfonditi. In generale, per esaminare la sostanza proposta, più laboratori lavorano in collaborazione seguendo un protocollo dettagliato che descrive le procedure che devono essere seguite. I risultati ottenuti vengono utilizzati per assegnare un contenuto. Se si utilizza un metodo selettivo è particolarmente importante quantificare le impurezze. In questo caso è preferibile esaminare la sostanza pro-

posta impiegando procedure analitiche addizionali e scientificamente giustificate, includendo, se possibile, dei metodi assoluti.

Se per un metodo non cromatografico (ad es. colorimetria o spettrofotometria nell'ultravioletto) è richiesto l'uso di uno standard di riferimento, devono essere verificate la reattività relativa o l'assorbanza relativa delle impurezze presenti nella sostanza, per garantire che esse non siano significativamente diverse da quelle della sostanza..

Si prepara un protocollo che deve essere strettamente seguito dai partecipanti allo studio collaborativo per l'attribuzione del contenuto. Il protocollo generalmente richiede:

- la determinazione dell'acqua (o la perdita all'essicca-mento).
- la valutazione delle impurezze organiche (inclusi i solventi residui, se appropriato) impiegando le tecniche separative prescritte;
- e, possibilmente, la determinazione del contenuto della sostanza con un metodo assoluto; questa determinazione, che non è necessariamente effettuata da tutti i partecipanti, viene eseguita a titolo di conferma ed i risultati non sono utilizzati nel calcolo del valore assegnato.

Il protocollo, per ognuno dei saggi eseguiti, indica anche i saggi di idoneità del sistema ed i criteri di accettazione.

Salvo indicazione contraria, un valore di contenuto viene attribuito alla sostanza o alla preparazione tal quale come è presente nel contenitore senza essiccare prima dell'uso. Per gli standard di dosaggio preparati per liofilizzazione, il contenuto della sostanza pura è indicato in milligrammi o in Unità Internazionali per contenitore.

4-2-3-2. Dosaggio microbiologico. Per prima cosa, per uno standard di riferimento destinato ad un dosaggio microbiologico, occorre dimostrare la conformità alla corrispondente monografia. Se il risultato è soddisfacente si effettua un dosaggio microbiologico in collaborazione, utilizzando lo standard internazionale. L'attività viene espressa in Unità Internazionali. Se non esiste uno standard internazionale, si utilizzano le Unità della Farmacopea Europea . L'attività attribuita viene calcolata sulla base dei risultati di uno studio collaborativo. Si applicano diversi criteri di validità, come il parallelismo, la linearità , l'aggiustamento quadratico

secondo le usuali procedure statistiche (5.3). L'attività assegnata ed i limiti di confidenza associati sono calcolati a partire da risultati statisticamente validi.

4-2-3-3. Dosaggio dei componenti di droghe vegetali e delle preparazioni contenenti droghe vegetali. La gamma dei saggi cui sono sottoposti gli standard di riferimento utilizzati nelle monografie di droghe vegetali variano a seconda del tipo di standard di riferimento.

- Un componente attivo o un componente marcatore, viene caratterizzato e valutato per l'identità e la purezza; un valore di contenuto viene attribuito, senza tener conto della purezza.
- Quando un componente attivo o un componente marcatore non sono disponibili in quantità sufficiente, si utilizza un estratto. Il contenuto assegnato ad un estratto viene stabilito con un saggio collaborativo impiegando un campione ben caratterizzato del principio attivo o del componente marcatore al quale deve essere attribuito un valore.

4-2-4. Rapporto di definizione. Viene preparato un rapporto contenente sia i risultati dello studio di definizione dello standard di riferimento che le informazioni relative al suo utilizzo. Per uno standard per il dosaggio chimico, il rapporto riporta, oltre al contenuto attribuito alla sostanza, il rationale relativo all'attribuzione di tale contenuto. Viene calcolata l'incertezza relativa al contenuto attribuito e, se è inferiore ad un valore predefinito considerato come irrilevante in relazione ai criteri di accettazione fissati per la determinazione, lo studio viene accettato. In caso contrario, lo studio può essere ripetuto, in tutto o in parte, o possono essere ampliati i limiti. L'incertezza relativa al contenuto assegnato non viene data come parte delle informazioni fornite con lo standard di riferimento perché, al momento di fissare il/i limite/i in una monografia, viene tenuto conto della precisione del metodo e della incertezza legata al contenuto attribuito allo standard di riferimento.

4-3. STANDARD SECONDARIO

Uno standard secondario deve presentare la stessa o le stesse proprietà di uno standard primario per quel che concerne il saggio o i saggi per cui è stato definito (ovvero realizzato). La gamma dei controlli non è così ampia come quella che è richiesta per la definizione di uno standard primario. Lo standard secondario viene definito per confronto con lo standard primario al quale è riconducibile. Per definire uno standard secondario si utilizza, tutte le volte che è possibile, uno standard primario ufficiale.

Identificazione

- Per l'impiego in spettrofotometria nell'infrarosso: le bande di assorbimento devono corrispondere, per posizione e dimensioni relative, alle bande d'assorbimento dello standard primario.
- Per l'impiego in tecniche separative: la distanza di migrazione, il tempo di migrazione ed il tempo di ritenzione dello standard secondario sono gli stessi di quelli dello standard primario per quel che riguarda rispettivamente la cromatografia su strato sottile o l'elettroforesi, l'elettroforesi capillare o la cromatografia liquida o in fase gassosa.

Saggio di purezza. Per l'impiego in tecniche separative: come indicato per l'identificazione, ma se lo standard è impiegato per la determinazione quantitativa, deve essere definito un contenuto in funzione del segnale misurato.

Determinazione quantitativa. Uno standard secondario viene analizzato in confronto con uno standard primario che ha un contenuto o una attività definita. La proprietà dello standard secondario per la quale deve essere attribuito un valore è di grandezza simile a quella dello standard primario di confronto. Devono essere predefinite sia il numero delle repliche indipendenti della determinazione che devono essere eseguite che i criteri di accettazione.

5. PRODUZIONE, ETICHETTATURA, CONSERVAZIONE E DISTRIBUZIONE

5-1. PRODUZIONE

Tutte le operazioni vengono eseguite conformemente alle norme relative alle buone pratiche per garantire la tracciabilità e l'integrità dello standard di riferimento. La documentazione di produzione include informazioni relative al riempimento, etichettatura e conservazione. Gli standard di riferimento vengono ripartiti nei contenitori in appropriate condizioni di riempimento e di chiusura al fine di garantire l'integrità dello standard di riferimento. I contenitori utilizzati possono essere monouso o per uso multiplo; l'uso di contenitori monouso viene però preferito per minimizzare il rischio di decomposizione, contaminazione o assorbimento di umidità.

5-2. ETICHETTATURA

L'etichetta riporta il nome dello standard di riferimento, il nome del fornitore, il numero di lotto e tutte le informazioni necessarie per il corretto uso dello standard di riferimento. Se lo standard di riferimento viene

utilizzato come standard per una determinazione quantitativa, vengono fornite anche le seguenti informazioni:

- il contenuto percentuale attribuito;
- o il contenuto in milligrammi o millilitro della entità chimica contenuta nel contenitore;
- o, per titolazioni biologiche o microbiologiche, l'attività attribuita, in unità per milligrammo o per contenitore.

Per uno standard di riferimento di un produttore, la etichetta indica la data di rianalisi o di scadenza. Per gli standard di riferimento della Farmacopea Europea non viene indicata una data di rianalisi o di scadenza poiché il programma di rianalisi (vedi sotto) ne assicura il monitoraggio per garantirne la continua idoneità all'uso.

Avvertenze. Può essere allegato un foglietto di istruzione che fornisce le informazioni necessarie al corretto uso dello standard di riferimento. Un foglietto di istruzione è considerato parte dell'etichetta. Se è indicato nella monografia, nel foglietto è compreso un cromatogramma.

5-3. CONSERVAZIONE E DISTRIBUZIONE

Gli standard di riferimento devono essere conservati e distribuiti in condizioni appropriate per garantirne una stabilità ottimale.

Standard di riferimento della Farmacopea Europea. Gli standard di riferimento della Farmacopea Europea sono conservati, per la maggior parte, in camere ad una temperatura controllata di 5 ± 3 °C. Comunque, un certo numero di standard di riferimento, che sono relativamente instabili, sono conservati a -20 ± 5 °C o, in pochi casi (ad esempio preparazioni a base di virus vivi), a -80 ± 10 °C; le culture cellulari sono conservate in azoto liquido (-180 °C).

Durante il trasporto, per ridurre al minimo il rischio di danni, si utilizza un confezionamento particolare.

Gli standard di riferimento che sono normalmente conservati a 5 ± 3 °C vengono spediti per posta normale, perché brevi escursioni dalla temperatura della conservazione a lungo termine non sono dannose per lo standard di riferimento. Gli standard di riferimento conservati a -20 °C vengono confezionati con ghiaccio e spediti per corriere espresso. Gli standard di riferimento conservati a -80 °C o conservati in azoto liquido vengono confezionati con anidride carbonica solida e spediti per corriere espresso.

6. PROGRAMMA DI RICONTROLLO

E' stato definito e messo in atto un sistema per garantire la continua idoneità degli standard di riferimento. Normalmente, si attua un programma di ricontrollo tenendo conto delle caratteristiche chimico-fisiche e della stabilità conosciute. Durante la conservazione gli standard di riferimento vengono analizzati periodicamente per verificarne la stabilità. Impiegando adatte tecniche analitiche viene attuato un programma di monitoraggio tendente a rilevare ad uno stadio precoce ogni segno di decomposizione. I metodi utilizzati sono scelti tra quelli impiegati durante la fase di definizione dello standard cosicché sono disponibili dati iniziali.

La periodicità e l'estensione dei ricontrolli degli standard di riferimento dipende da un certo numero di fattori come:

- la stabilità,
- il contenitore ed il sistema di chiusura,
- le condizioni di conservazione,
- l'igroscopicità,
- la forma fisica,
- l'utilizzazione prevista,
- la presentazione (per monouso o per uso multiplo).

La maggior parte degli standard di riferimento si presentano come polveri ma alcuni sono preparati sotto forma di soluzione. Preferibilmente, gli standard di riferimento devono essere presentati sotto forma di unità

non riutilizzabili. Comunque, se lo standard è contenuto in contenitori per uso multiplo, il ricontrollo di sostanze igroscopiche o sensibili all'ossigeno può essere più frequente. I metodi di analisi includono la determinazione del tenore in acqua e dei prodotti di decomposizione (se noti). Se giustificato da dati sufficienti il periodo di ricontrollo può essere allungato. La massima variazione permessa rispetto al valore attribuito deve essere definita in anticipo e, se è superata, il lotto deve essere rivalutato o sostituito.

Standard di riferimento della Farmacopea Europea. Il programma di monitoraggio dell'EDQM include una selezione dei seguenti saggi, scelti perché rapidi, sensibili e applicabili a piccoli quantitativi:

- determinazione dell'acqua, perdita all'essiccamento e/o analisi termogravimetrica,
- valutazione delle impurezze mediante tecniche separative indicative della stabilità,
- determinazione della purezza molare mediante calorimetria differenziale a scansione, quando appropriato,
- impiego di altri saggi specifici per la rivelazione di impurezze.

Tutte le differenze significative osservate per confronto con il precedente controllo porteranno ad una verifica più approfondita del lotto e, se necessario, alla definizione di un lotto sostitutivo.

5.14. Medicinali per il trasferimento genico per uso umano

5.14.	Medicinali per il trasferimento genico per uso umano	805	Vettori plasmidici per uso umano . . .	813
	Vettori adenovirali per uso umano . .	807	Cellule batteriche usate per la produzione di vettori plasmidici per uso umano	816
	Vettori da poxvirus per uso umano . .	810		

5.14. MEDICINALI PER IL TRASFERIMENTO GENICO PER USO UMANO

Il seguente capitolo è pubblicato per informazione.

Questo capitolo generale contiene una serie di testi sui medicinali per terapia genica per uso umano. Questi testi contengono requisiti applicabili alla produzione e al controllo di tali medicinali. Nel caso di uno specifico medicinale, l'applicazione di questi requisiti e la necessità di aggiungerne altri sono decise dall'Autorità competente. Questi testi sono stati scritti per essere applicabili a medicinali approvati (autorizzati all'immissione in commercio); la necessità di applicarli interamente o per alcune parti ai prodotti sperimentali usati durante le diverse fasi degli studi clinici è decisa dall'Autorità competente. Quanto descritto nel capitolo non esclude l'uso di metodi alternativi di produzione e controllo che siano considerati accettabili dall'Autorità competente.

*Ulteriori dettagliate raccomandazioni sui medicinali per terapia genica per uso umano sono disponibili nel documento *Note for guidance on the Quality, Preclinical and Clinical Aspects of Transfer Medicinal Products (CPMP/BWP/3088/99)* e nella linea guida *Development and Manufacture of Lentiviral Vectors (CHMP/BWP/2458/03)* del Comitato per i prodotti medicinali specialità medicinali per uso umano (compresa ogni successiva revisione di questi documenti).*

DEFINIZIONE

Ai fini di questo capitolo generale, con la frase medicinale per il trasferimento genico per uso umano si indica quel prodotto medicinale ottenuto attraverso un insieme di processi di produzione e avente lo scopo di trasferire, con modalità *in vivo* oppure *ex vivo*, un gene (cioè un pezzo di acido nucleico) profilattico, diagnostico oppure terapeutico a cellule umane/animali e di determinarne la successiva espressione *in vivo*. Il trasferimento genico implica un sistema di espressione, detto vettore, che può essere di origine virale oppure non virale. Il vettore può anche essere incluso in cellule animali o umane.

Vettori ricombinanti, come i vettori virali o plasmidici. I vettori ricombinanti sono iniettati direttamente nel corpo del paziente (trasferimento genico *in vivo*) oppure vengono prima trasferiti in cellule ospiti, le quali dopo essere state così geneticamente modificate vengono a loro volta somministrate al paziente (trasferimento genico *ex vivo*). I vettori virali sono derivati da vari virus (per esempio, adenovirus, poxvirus, retrovirus, lentivirus, virus adeno-associati, virus herpes). Questi vettori possono essere capaci di replicarsi (replicativi), incapaci di replicarsi (non replicativi) oppure capaci di

replicarsi soltanto in modo controllato (replicativi condizionati). I vettori plasmidici comprendono acidi nucleici in formulazione semplice (per es., DNA nudo) oppure complessati con molecole diverse (vettori sintetici come lipidi o polimeri). Il materiale genetico trasferito con il medicinale per trasferimento genico consiste di sequenze nucleotidiche che possono codificare per prodotti genici, trascritti antisenso o ribozimi. Oligonucleotidi ottenuti per sintesi chimica non sono compresi nello scopo di questo capitolo generale. Dopo il trasferimento genico, il materiale genetico può essere integrato nel genoma della cellula ospite, oppure rimanere nel citoplasma, cioè in forma episomale, a seconda che il vettore sia capace di integrazione oppure no.

Cellule geneticamente modificate. Cellule batteriche oppure eucariotiche geneticamente modificate sono modificate da vettori per esprimere il prodotto di interesse.

PRODUZIONE

Sostanze usate in produzione. I materiali di partenza usati durante il processo produttivo, compreso quello di preparazione delle banche cellulari e dei lotti di semenza virale, sono sottoposti a qualifica, se applicabile. Tranne nei casi in cui sia diversamente giustificato, tutte le sostanze usate sono prodotte nell'ambito di un sistema di assicurazione di qualità riconosciuto usando strutture di produzione adeguate. Si stabiliscono specifiche adeguate allo scopo di tenere sotto controllo in particolare identità, attività biologica (se applicabile), purezza e sicurezza in termini di qualità microbiologica e contaminazione da endotossine batteriche. La qualità dell'acqua usata è conforme alle corrispondenti monografie applicabili (*Acqua depurata (0008)*, *Acqua altamente depurata (1927)*, *Acqua per preparazioni iniettabili (0169)*). Per quanto possibile si evita l'uso di antibiotici durante la produzione.

Sicurezza virale. Si applicano i requisiti del capitolo 5.1.7.

Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (5.2.8). Si effettua una valutazione del rischio sul prodotto riguardo alle encefalopatie spongiformi trasmissibili e si prendono misure adeguate per minimizzare tale rischio.

Vettori ricombinanti

PRODUZIONE

INDICAZIONI GENERALI

Per i vettori virali, la produzione è basata, dove possibile, su un sistema di banche cellulari e un sistema di lotti di semenza virale.

Per i vettori plasmidici, la produzione è basata sul sistema di banche cellulari batteriche.

Si deve dimostrare che il metodo di produzione è capace di dare una resa di vettore di qualità riproducibile allo scopo di garantire efficacia e sicurezza nell'uomo. Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, il vettore nel prodotto finale ha subito un numero di passaggi o sottocolture a partire dal lotto primario di semenza virale non superiore a quello utilizzato per preparare il vettore che nelle sperimentazioni cliniche ha dato risultati soddisfacenti per sicurezza ed efficacia.

SUBSTRATI PER LA PROPAGAZIONE DEL VETTORE

I substrati usati sono conformi ai requisiti applicabili della Farmacopea Europea (5.2.2, 5.2.3, e la sezione alla fine di questo capitolo: *Cellule batteriche usate per la produzione dei vettori plasmidici per uso umano*).

CARATTERIZZAZIONE DEL VETTORE

Si deve documentare la storia della costruzione del vettore, compresa l'origine del vettore e le successive manipolazioni, in particolare le regioni eliminate o modificate.

Il vettore è caratterizzato con metodi adeguati e convalidati.

La stabilità genetica del vettore viene verificata con metodi adeguati, ad un numero di passaggi uguale o superiore a quelli massimi usati per la produzione.

PROPAGAZIONE E RACCOLTA

Tutte le operazioni di manipolazione delle banche cellulare e successiva colture cellulari sono effettuate in un'area dove non vengono manipolati allo stesso tempo nessun'altra cellula o vettore. Ogni materiale di origine umana o animale usato nella preparazione delle sospensioni cellulari e dei terreni di coltura cellulare è sottoposto a qualifica. La purezza della raccolta viene verificata mediante saggi adeguati come definito nelle corrispondenti specifiche sezioni.

RACCOLTA PURIFICATA

L'ingrediente attivo in bulk è definito come un lotto di vettore ricombinante (vettore virale, plasmide nudo o complessato) purificato.

LOTTO FINALE

Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, la formulazione e la ripartizione del lotto finale vengono effettuati in condizioni asettiche usando contenitori sterili (3.2).

La stabilità del lotto finale viene determinata mediante protocolli di stabilità che comprendono la durata, le

condizioni di conservazione, il numero dei lotti da sottoporre a saggio, il programma dei saggi e i dosaggi da effettuare.

DOSAGGI E SAGGI

I medicinali per il trasferimento genico sono conformi ai saggi e ai dosaggi descritti nelle corrispondenti sezioni.

Cellule geneticamente modificate

Per le cellule che devono essere modificate geneticamente con un vettore ricombinante, i dati relativi al vettore ricombinante sono documentati nella sezione precedente *Vettori ricombinanti*.

PRODUZIONE

SUBSTRATO CELLULARE

Per le linee cellulari xenogeniche, comprese quelle batteriche, viene stabilito un sistema di banche cellulari comprendente una banca cellulare primaria e una banca cellulare di lavoro.

Per le cellule autologhe ed allogeniche, viene stabilito un sistema di banche cellulari comprendente una banca cellulare primaria e una banca cellulare di lavoro, quando possibile.

TRASFEZIONE/TRASDUZIONE

Le cellule sono trasdotte o trasfettate usando un vettore ricombinante (plasmide oppure vettore virale) qualificato come descritto nella sezione *Vettori ricombinanti*; il processo è convalidato. Esse sono manipolate in condizioni di asepsi in un'area dove non sono manipolate allo stesso tempo nessun'altra cellula o vettore. Tutti i reattivi usati durante la manipolazione delle cellule sono sottoposti a completa qualifica. Evitare l'uso di antibiotici a meno di giustificazione e autorizzazione. La trasfezione o la trasduzione sono effettuate in condizioni di asepsi.

LOTTO FINALE

Nel caso di conservazione per congelamento, la vitalità delle cellule geneticamente modificate viene determinata prima del congelamento e dopo lo scongelamento.

Se le cellule non sono usate entro un breve periodo di tempo, la stabilità viene determinata verificando la vitalità cellulare e l'espressione del gene inserito.

Nel caso di cellule geneticamente modificate che siano state incapsulate prima dell'impianto nel paziente, qualsiasi componente dell'incapsulamento viene considerato parte del prodotto finale, e perciò viene sottopo-

sto a controllo di qualità e a completa caratterizzazione (per esempio, integrità fisica, permeabilità selettiva, sterilità).

DOSAGGI E SAGGI

I controlli sulle cellule xenogeniche, allogeniche e autologhe comprendono i seguenti saggi e dosaggi:

- identità, conta e vitalità cellulare
- integrità complessiva, funzionalità, numero di copie per cellula, efficienza di trasferimento e di espressione del gene inserito
- controlli microbiologici (2.6.1 oppure 2.6.27), contenuto in endotossine, contaminazione da micoplasmi (2.6.7) e da virus avventizi, e generazione di vettore replicativo, quando applicabile.

L'Autorità competente può approvare un programma ridotto di controlli quando sia reso necessario dalla limitata disponibilità di cellule. Quando sia reso necessario da vincoli di tempo, il prodotto può essere rilasciato per l'uso prima del completamento di alcuni saggi.

VETTORI ADENOVIRALI PER USO UMANO

DEFINIZIONE

I vettori adenovirali per uso umano sono preparazioni liofilizzate o liquide di adenovirus ricombinanti, modificati geneticamente per trasferire materiale genetico a cellule somatiche umane *in vivo* o *ex vivo*.

PRODUZIONE

COSTRUZIONE DEL VETTORE

Ci sono approcci differenti alla progettazione e alla costruzione di un vettore adenovirale. Lo scopo dell'uso clinico determina quale approccio sia ottimale. Si sceglie un metodo che minimizzi il rischio di generare un vettore adenovirale competente per la replicazione o che elimini efficacemente potenziali virus helper durante la produzione.

PRODUZIONE DEL VETTORE

Si deve dimostrare che il metodo di produzione è capace di dare un vettore di qualità riproducibile allo scopo di garantire efficacia e sicurezza nell'uomo. Salvo indicazione diversa giustificata ed autorizzata, il vettore nel prodotto finale ha subito un numero di passaggi o sottocolture a partire dal lotto primario di semenza virale non superiore a quello utilizzato per preparare il vettore che nelle sperimentazioni cliniche ha dato risultati soddisfacenti per sicurezza ed efficacia.

Determinare con metodi adeguati la stabilità genetica e fenotipica del costrutto del vettore, ad un numero di passaggi uguale o superiore a quello massimo usato per la produzione.

SUBSTRATI PER LA PROPAGAZIONE DEL VETTORE

Il vettore è propagato in linee cellulari continue (5.2.3) in un sistema di banche cellulari. La comparsa di vettori adenovirali competenti per la replicazione (RCA) può essere significativa quando esistono ampie regioni di omologia tra il genoma del virus e il genoma delle cellule che lo complementano. Tale comparsa può essere minimizzata riducendo al minimo le omologie tra i due genomi. Per la produzione si raccomanda di usare cellule che non hanno omologia di sequenza con il vettore.

LOTTO DI SEMENZA DEL VETTORE

La produzione del vettore è basata su un sistema di lotti di semenza. Il ceppo di adenovirus usato è identificato attraverso registrazioni storiche che comprendono informazioni sulla sua origine e sulle successive manipolazioni, in particolare le regioni eliminate o modificate. Sono descritti in modo dettagliato i geni inseriti e le regioni fiancheggianti di controllo, compresa la sequenza nucleotidica. Documentare il metodo con cui il gene viene inserito nel vettore.

Si può usare per la produzione del vettore solo un lotto di semenza che soddisfi i seguenti requisiti.

Identificazione. Il vettore è identificato nel lotto primario di semenza e in ciascun lotto di lavoro per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (2.6.21).

Caratterizzazione genetica e fenotipica. Effettuare i saggi seguenti.

- La sequenza dell'intero genoma del vettore è verificata ad un passaggio paragonabile a quello di un lotto di produzione; la sequenza determinata analiticamente è paragonata a quella determinata teoricamente sulla base della costruzione del vettore e delle basi di dati disponibili.
- Si effettua una analisi con enzimi di restrizione sul DNA del vettore del lotto primario di semenza, di ciascun lotto di lavoro e di un lotto di produzione. Il DNA virale viene estratto, purificato e digerito con sufficiente risoluzione. I frammenti ottenuti dalla digestione vengono separati per mezzo di elettroforesi su gel o elettroforesi capillare; il quadro di restrizione osservato viene paragonato con quello determinato teoricamente sulla base della costruzione del vettore.

- Si sottopone un numero adeguato di sottocloni isolati al saggio di espressione del prodotto del gene inserito e di attività biologica, ad un passaggio paragonabile a quello di un lotto di produzione. È necessario caratterizzare ulteriormente i sottocloni per cui risultano livelli inferiori di espressione o attività biologica.

Concentrazione del vettore. Determinare il titolo di vettore infettivo o la concentrazione di particelle virali nel lotto primario di semenza e in ciascun lotto di lavoro.

Agenti estranei (2.6.16). Il lotto primario di semenza e ciascun lotto di lavoro soddisfano il saggio per gli agenti estranei.

Vettore adenovirale competente per la replicazione (RCA). Gli RCA sono generati attraverso la ricombinazione omologa tra il DNA virale ricombinante e le sequenze adenovirali integrate nel genoma delle cellule che complementano il virus.

La presenza di RCA è determinata per mezzo di metodi adeguati approvati dall'Autorità competente.

In generale si effettua il saggio quantitativo di infettività su linee cellulari rivelatrici sensibili al virus, che non siano in grado di complementare i geni eliminati dal vettore.

Si possono usare altri indicatori di replicazione virale se appropriati.

Quando si suppone che l'RCA non sia presente nel campione in esame, tenendo conto della costruzione del vettore e le linee cellulari usate, la linea cellulare rivelatrice è propagata per almeno 2 passaggi successivi, ma preferibilmente 3 o 4, dove applicabile. L'evidenza di un effetto citopatico alla fine dei passaggi rivela la presenza di RCA nella preparazione. In ciascun saggio quantitativo sono inseriti controlli positivi per tenere sotto controllo la sensibilità del dosaggio.

Quando si suppone che sia presente RCA nel campione in esame, si possono effettuare dosaggi su piastra o per diluizione al limite su una linea cellulare rivelatrice.

PROPAGAZIONE E RACCOLTA

Tutte le operazioni di manipolazione della banca cellulare e di successive colture cellulari sono effettuate in un'area con adeguato livello di contenimento dove non sono manipolate nello stesso tempo nessun'altra cellula o vettore. Qualunque materiale di origine umana o animale usato nella preparazione delle sospensioni cellulari e dei terreni di coltura viene sottoposto a qualifica. Il terreno di coltura cellulare può contenere un indicatore di pH, come il rosso fenolo, e additivi antibiotici alla minima concentrazione efficace, ma è preferibile avere un substrato senza antibiotici durante la produzione.

Ad eccezione di indicazioni contrarie giustificate e autorizzate, non utilizzare penicillina e streptomina in nessun stadio dalla produzione. Conservare una porzione della coltura cellulare di produzione come coltura cellulare non infettata (cellule di controllo).

Si può usare per la preparazione della raccolta purificata solo ciascuna singola raccolta che soddisfi i seguenti requisiti.

Identificazione. Identificare il vettore per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (2.6.21).

Concentrazione del vettore. Determinare in ciascuna raccolta il titolo di vettore infettivo o la concentrazione di particelle virali.

Agenti estranei (2.6.16). Ciascuna raccolta soddisfa il saggio per gli agenti estranei.

Cellule di controllo. Le cellule di controllo soddisfano il saggio per l'identificazione (5.2.3) e per gli agenti estranei (2.6.16).

RACCOLTA PURIFICATA

Alcune raccolte singole possono essere riunite prima del processo di purificazione. Il processo di purificazione è convalidato allo scopo di dimostrare che le impurezze sono eliminate in modo soddisfacente.

Si possono usare per la preparazione del prodotto finale in bulk le raccolte purificate che soddisfino i seguenti requisiti.

Concentrazione del vettore. Determinare il titolo di vettore infettivo o la concentrazione di particelle virali sulla raccolta purificata.

Identificazione. Identificare il vettore per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (2.6.21).

Integrità genomica. Verificare l'integrità genomica del vettore per mezzo di metodi adeguati, come l'analisi con enzimi di restrizione.

Proteine residue derivate dalle cellule ospiti. Determinare il contenuto di proteine residue derivate dalle cellule ospiti usando un adeguato metodo immunochimico (2.7.1), a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne una rimozione adeguata.

DNA residuo derivato dalle cellule ospiti. Determinare il contenuto di DNA residuo derivato dalle cellule ospiti usando un metodo adeguato, a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne una rimozione adeguata. Si raccomanda di usare la reazione a catena della polimerasi (PCR) quantitativa per la sua sensibilità e specificità, ma si possono anche usare altre tecniche adeguate.

Reattivi residui. Se si usano reagenti durante il processo di purificazione, sulla raccolta purificata si effettuano saggi per queste sostanze (per esempio cromatografia liquida o spettrometria ad assorbimento atomico), a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne una adeguata rimozione.

Antibiotici residui. Se si usano antibiotici durante il processo di produzione, si determina la loro concentrazione residua mediante un dosaggio microbiologico (adattato da 2.7.2) oppure mediante altri metodi adeguati (per esempio cromatografia liquida), a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne una adeguata rimozione.

LOTTO FINALE IN BULK

Parecchie raccolte purificate possono essere riunite durante la preparazione del lotto finale in bulk. Si possono aggiungere uno stabilizzante e altri eccipienti. Il prodotto formulato è filtrato attraverso un filtro che trattiene i batteri.

Si può usare per la preparazione del lotto finale solo un lotto finale in bulk che soddisfi i seguenti requisiti.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa il saggio di sterilità, eseguito su 10 ml per ciascun terreno.

LOTTO FINALE

Si può rilasciare per l'uso solo un lotto finale che soddisfi ciascuno dei requisiti elencati di seguito in Identificazione, Saggi e Dosaggi.

I saggi per albumina sierica bovina (se è usata per produrre il vettore) e RCA possono essere omessi sul lotto finale, purché siano stati effettuati sul lotto finale in bulk con risultati soddisfacenti.

IDENTIFICAZIONE

Il vettore è identificato per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (2.6.21) o di analisi con enzimi di restrizione.

SAGGI

Osmolalità (2.2.35). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

pH (2.2.3). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

Volume estraibile (2.9.17). Soddisfa il saggio per il volume estraibile.

Umidità residua (2.5.12). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione liofilizzata.

Albumina sierica bovina. Se è stata usata durante la produzione, non superiore al limite approvato per quella particolare preparazione, determinato con un adeguato metodo immunochimico (2.7.1).

Concentrazione del vettore adenovirale competente per la replicazione (RCA). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

Vettori aggregati. I vettori aggregati sono determinati mediante un metodo adatto (per esempio, diffrazione della luce).

Sterilità (2.6.1). Soddisfa il saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Inferiore al limite approvato per quella particolare preparazione.

Stabilità al calore. Mantenere i campioni di lotto finale del vettore ad una temperatura e per un tempo che sono adattati e approvati per quella particolare preparazione. Dopo l'esposizione al calore, determinare la concentrazione totale del vettore infettivo come descritto di seguito in Dosaggio. In parallelo determinare la concentrazione totale del vettore infettivo in un campione non esposto al calore. La differenza tra la concentrazione totale del vettore senza esposizione al calore e dopo esposizione al calore è compreso nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

DOSAGGIO

Concentrazione di particelle del vettore. Effettuare la titolazione fisica mediante una tecnica adeguata (per es. cromatografia liquida, misura dell'assorbanza o tecniche NAT (2.6.21)). Per convalidare ciascun dosaggio usare un appropriato standard di riferimento del vettore.

La concentrazione di particelle del vettore della preparazione in esame non è inferiore alla concentrazione riportata in etichetta.

Titolo infettivo del vettore. Titolare la preparazione in esame mediante inoculazione in colture cellulari. Per convalidare ciascun dosaggio, titolare un appropriato standard di riferimento del vettore.

Il dosaggio non è valido se:

- l'intervallo fiduciale ($P = 0,95$) del logaritmo della concentrazione del vettore è maggiore del valore autorizzato dall'Autorità competente;
- il titolo infettivo dello standard di riferimento non è compreso nei valori limite definiti dalla carta di controllo.

Rapporto tra concentrazione di particelle e titolo infettivo del vettore. Nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

Espressione del prodotto dell'inserto genetico. Quando possibile, determinare l'espressione del prodotto del gene inserito, dopo inoculazione delle colture cellulari con quella particolare preparazione ad una molteplicità di infezione predefinita, mediante dosaggi immunochimici adeguati (2.7.1.) o biochimici o mediante citometria a flusso (2.7.24.).

Attività biologica. Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, determinare l'attività biologica mediante un saggio *in vivo* o *in vitro* adeguato.

ETICHETTA

L'etichetta indica:

- il contenuto di principio attivo;
- la dose raccomandata per l'uomo, espressa in concentrazione di particelle del vettore;
- per le preparazioni liofilizzate:
 - il nome o la composizione e il volume del liquido di ricostituzione aggiunto,
 - il tempo entro il quale il prodotto deve essere usato dopo la ricostituzione.

VETTORI DA POXVIRUS PER USO UMANO

DEFINIZIONE

I vettori da poxvirus per uso umano sono preparazioni liofilizzate o liquide di poxvirus ricombinanti, modificati geneticamente per trasferire materiale genetico a cellule somatiche umane *in vivo* o *ex vivo*.

PRODUZIONE

COSTRUZIONE DEL VETTORE

La progettazione generale di un vettore da poxvirus avviene attualmente come segue: l'inserto genetico è inserito a valle di un promotore del poxvirus. Questa cassetta di espressione è inserita nel genoma del poxvirus in modo tale da interrompere un gene virale non essenziale per la replicazione oppure è messo in posizione tra due porzioni codificanti del virus.

Nella maggior parte delle strategie finora usate nella costruzione del vettore, per prima cosa inserire la cassetta di espressione all'interno di un sito bersaglio di un frammento di DNA virale clonato in un plasmide batterico. Poi introdurre il plasmide in cellule ospiti, coltivate *in vitro*, che contemporaneamente sono infettate con il poxvirus parentale. Nelle cellule infettate avviene la ricombinazione di DNA tra sequenze omologhe nel genoma virale e sequenze virali nel plasmide in

modo tale da trasferire l'inserto genetico all'interno del sito bersaglio del genoma virale. Verificare che il DNA sia stato inserito nella corretta posizione del bersaglio mediante mappatura con enzimi di restrizione, tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (2.6.21) e sequenziamento. Effettuare passaggi successivi di clonaggio su piastra per purificare il poxvirus ricombinante dalla miscela di virus parentale e ricombinante. Per facilitare il riconoscimento e /o la selezione del poxvirus ricombinante dal virus parentale si impiegano vari metodi (per es., geni marcatori estranei, ibridazione del DNA, rivelazione immunologica, cambiamenti fenotipici del virus). Nel caso che siano stati usati in modo transiente, i geni marcatori estranei sono rimossi dal poxvirus ricombinante finale mediante metodi appropriati.

Una strategia alternativa per creare vettori da poxvirus comincia con la costruzione *in vitro* di un genoma virale di lunghezza intera che contiene la cassetta di espressione all'interno di un sito bersaglio selezionato. Questo genoma ricombinante viene poi introdotto in cellule ospiti infettate contemporaneamente con un poxvirus adiuvante ("helper") incapace di moltiplicarsi. Il virus adiuvante può essere un poxvirus della stessa specie la cui capacità di moltiplicarsi è stata inattivata oppure un'altra specie di poxvirus che non si moltiplica nelle cellule ospiti.

La costruzione di vettori da poxvirus non replicativi si fonda su linee specifiche di cellule ospiti o su cellule primarie che sono naturalmente sensibili oppure su linee di cellule ospiti che sono state modificate per esprimere un gene essenziale del poxvirus. Queste cellule soddisfano i requisiti generali per la produzione di medicinali (5.2.3) e non permettono la generazione di vettori replicativi.

PRODUZIONE DEL VETTORE

Si deve dimostrare che il metodo di produzione è capace di dare un vettore di qualità riproducibile allo scopo di garantire efficacia e sicurezza nell'uomo. Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, il vettore nel prodotto finale ha subito un numero di passaggi a partire dal lotto primario di semenza virale non superiore a quello che è stato usato per preparare il vettore che nelle sperimentazioni cliniche ha dato risultati soddisfacenti per sicurezza ed efficacia.

Determinare con metodi adeguati la stabilità genetica e fenotipica del costruito del vettore, ad un numero di passaggi uguale o superiore a quello massimo usato per la produzione.

SUBSTRATI PER LA PROPAGAZIONE DEL VETTORE

Il vettore è propagato in condizioni di asepsi in cellule umane diploidi (5.2.3), in linee cellulari continue (5.2.3) o in colture di cellule embrionali di pollo derivate da un allevamento di polli esente da microrganismi patogeni specificati (5.2.2). Se il vettore è propagato in cellule umane diploidi o in linee cellulari continue, si stabilisce un sistema di banche cellulari.

LOTTO DI SEMENZA DEL VETTORE

La produzione del vettore è basata su un sistema di lotti di semenza. Il ceppo di poxvirus usato è identificato attraverso registrazioni storiche che comprendono informazioni sulla sua origine e sulle successive manipolazioni, in particolare regioni eliminate o modificate. Sono descritti in modo dettagliato i geni inseriti e le regioni fiancheggianti di controllo, compresa la sequenza nucleotidica. Documentare il metodo con cui l'inserito genetico è introdotto nel vettore.

Si può usare per la produzione del vettore solo un lotto di semenza che soddisfi i seguenti requisiti.

Identificazione. Identificare il vettore nel lotto primario di semenza e in ciascun lotto di lavoro per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di NAT (2.6.21).

Caratterizzazione genetica e fenotipica. Si effettuano i seguenti saggi.

- Verificare la sequenza dell'intero genoma del vettore ad un passaggio paragonabile a quello di un lotto di produzione; la sequenza determinata analiticamente è paragonata a quella determinata teoricamente sulla base della costruzione del vettore e delle basi di dati disponibili.
- Effettuare una analisi con enzimi di restrizione sul DNA del vettore del lotto primario di semenza, di ciascun lotto di lavoro e di un lotto di produzione. Il DNA virale viene estratto, purificato e digerito con sufficiente risoluzione. I frammenti ottenuti dalla digestione vengono separati per mezzo di elettroforesi su gel o elettroforesi capillare; il quadro di restrizione osservato viene paragonato con quello determinato teoricamente sulla base della costruzione del vettore.
- Sottoporre un numero adeguato di sottocloni isolati al saggio di espressione del prodotto del gene inserito e di attività biologica, ad un passaggio paragonabile a quello di un lotto di produzione. È necessario caratterizzare ulteriormente i sottocloni per cui risultano livelli inferiori di espressione o attività biologica.

- Verificare lo spettro di ospiti determinando le proprietà di replicazione del vettore e paragonandole con quelle del virus parentale, ad un passaggio paragonabile a quello di un lotto di produzione.

Titolo infettivo del vettore. Determinare nel lotto primario di semenza e in ciascun lotto di lavoro il titolo di vettore infettivo.

Agenti estranei (2.6.16). Il lotto primario di semenza e ciascun lotto di lavoro soddisfano il saggio per gli agenti estranei, tranne nei casi in cui non si possono neutralizzare i ceppi citopatici e il vettore causa interferenza. Quando non si può effettuare il saggio, eseguire un'alternativa convalidata.

PROPAGAZIONE E RACCOLTA

Effettuare tutte le operazioni di manipolazione delle banche e di successiva coltura cellulare in condizioni di asepsi in un'area con adeguato livello di contenimento dove non vengono manipolati allo stesso tempo nessun'altra cellula o vettore. Qualunque materiale di origine umana o animale usato nella preparazione delle sospensioni cellulari e dei terreni di coltura viene sottoposto a qualifica. Il terreno di coltura cellulare può contenere un indicatore di pH, come il rosso fenolo, e adatti antibiotici alla minima concentrazione efficace, ma è preferibile avere un substrato senza antibiotici durante la produzione. Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, penicillina e streptomina non vengono mai usate durante la produzione a nessun passaggio. Una porzione della coltura cellulare di produzione è tenuta da parte come coltura cellulare non infettata (cellule di controllo).

Per la preparazione della raccolta purificata si può usare ciascuna singola raccolta che soddisfi i seguenti requisiti.

Identificazione. Identificare il vettore per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di NAT (2.6.21).

Titolo infettivo del vettore. Determinare nella singola raccolta il titolo di vettore infettivo.

Agenti estranei (2.6.16). La singola raccolta soddisfa il saggio per gli agenti estranei, tranne nei casi in cui non si possono neutralizzare i ceppi citopatici e il vettore causa interferenza. Quando non si può effettuare il saggio, si segue una alternativa convalidata.

Cellule di controllo. Se sono usate per la produzione cellulare umana diploidi o una linea cellulare continua, le cellule di controllo soddisfano ad un saggio di identificazione (5.2.3). Esse soddisfano al saggio per gli agenti estranei (2.6.16).

RACCOLTA PURIFICATA

Effettuare il processo in condizioni di asepsi. Parecchie raccolte singole possono essere riunite prima del processo di purificazione. La raccolta è per prima cosa chiarificata per rimuovere le cellule e poi, se applicabile, purificata con metodi convalidati.

Si possono usare per la preparazione del prodotto finale in bulk le raccolte purificate che soddisfino i seguenti requisiti.

Titolo infettivo del vettore. Determinare sulla raccolta purificata il titolo di vettore infettivo.

Identificazione. Identificare il vettore per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di NAT (2.6.21).

Integrità genomica. Verificare l'integrità genomica del vettore per mezzo di metodi adeguati, come l'analisi con enzimi di restrizione.

Rapporto tra titolo infettivo del vettore e concentrazione di proteine. Determinare con un metodo adeguato (2.5.33) la concentrazione totale di proteine. Calcolare il rapporto tra titolo infettivo del vettore e concentrazione totale di proteine.

Proteine residue derivate dalle cellule ospiti. Determinare il contenuto di proteine residue derivate dalle cellule ospiti usando un adeguato metodo immunochimico (2.7.1), a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne una adeguata rimozione.

DNA residuo derivato dalle cellule ospiti. Determinare il contenuto di DNA residuo derivato dalle cellule ospiti usando un adeguato metodo, a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne un'adeguata rimozione. Si raccomanda di usare la reazione a catena della polimerasi (PCR) quantitativa per la sua sensibilità e specificità, ma si possono anche usare altre tecniche adeguate.

Reattivi residui. Se si usano reattivi durante il processo di purificazione, sulla raccolta purificata si effettuano saggi per queste sostanze (per esempio cromatografia liquida o spettrometria ad assorbimento atomico), a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne una adeguata rimozione.

Antibiotici residui. Se si usano antibiotici durante il processo di produzione, si determina la loro concentrazione residua mediante un dosaggio microbiologico (adattato da 2.7.2) oppure mediante altri metodi adeguati (per esempio cromatografia liquida), a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne una adeguata rimozione.

LOTTO FINALE IN BULK

Parecchie raccolte purificate possono essere riunite durante la preparazione del lotto finale in bulk. Si possono aggiungere uno stabilizzante e altri eccipienti.

Si può usare per la preparazione del lotto finale solo un lotto finale in bulk che soddisfi i seguenti requisiti.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa il saggio di sterilità, eseguito su 10 ml per ciascun terreno.

LOTTO FINALE

Si può rilasciare per l'uso solo un lotto finale che soddisfi ciascuno dei requisiti elencati di seguito in Identificazione, Saggi e Dosaggi.

Il saggio per albumina sierica bovina (se è usata per produrre il vettore) può essere omesso sul lotto finale, purché sia stato effettuato sul lotto finale in bulk con risultati soddisfacenti.

IDENTIFICAZIONE

Il vettore è identificato per mezzo di metodi immunochimici (2.7.1) o di tecniche NAT (2.6.21).

SAGGI

Osmolalità (2.2.35). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

pH (2.2.3). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

Volume estraibile (2.9.17). Soddisfa il saggio per il volume estraibile.

Umidità residua (2.5.12). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione liofilizzata.

Albumina sierica bovina. Se è stata usata durante la produzione, non superiore al limite approvato per quella particolare preparazione, determinato con un adeguato metodo immunochimico (2.7.1).

Sterilità (2.6.1). Soddisfa il saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Inferiore al limite approvato per quella particolare preparazione.

Stabilità al calore. Mantenere i campioni di lotto finale del vettore ad una temperatura e per un tempo che sono adattati e approvati per quella particolare preparazione. Dopo l'esposizione al calore, determinare la concentrazione totale del vettore infettivo come descritto sotto Dosaggio. In parallelo determinare la concentrazione totale del vettore infettivo in un campione non esposto al calore. La differenza tra la concentrazione

totale del vettore senza esposizione al calore e dopo esposizione al calore è compresa nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

DOSAGGIO

Titolo infettivo del vettore. Titolare almeno 3 fiale della preparazione in esame mediante inoculazione in colture cellulari. Per convalidare ciascun dosaggio si titola una fialetta di un appropriato standard di riferimento del vettore.

Il titolo del vettore nella preparazione in esame non è inferiore alla quantità minima riportata in etichetta.

Il dosaggio non è valido se:

- l'intervallo fiduciale ($P = 0,95$) del logaritmo della concentrazione di vettore è maggiore del valore autorizzato dall'Autorità competente;
- il titolo infettivo dello standard di riferimento cade fuori dai valori limite definiti dalla carta di controllo.

Espressione del prodotto del gene inserito. Quando possibile, si determina l'espressione del prodotto del gene inserito, dopo inoculazione di colture cellulari con quella particolare preparazione ad una molteplicità di infezione predefinita, mediante adeguati dosaggi immunochimici (2.7.1.) o biochimici o citofluorimetria a flusso (2.7.24.).

Attività biologica. Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, determinare l'attività biologica mediante un saggio *in vivo* o *in vitro* adeguato.

ETICHETTA

L'etichetta indica:

- il titolo di vettore minimo per dose;
- la dose raccomandata per l'uomo;
- per le preparazioni liofilizzate:
 - il nome o la composizione e il volume del liquido di ricostituzione che va aggiunto;
 - il tempo entro il quale il prodotto deve essere usato dopo la ricostituzione.

VETTORI PLASMIDICI PER USO UMANO

DEFINIZIONE

I vettori plasmidici per uso umano sono forme circolari a doppia elica di DNA batterico che portano un gene di interesse o una sequenza nucleotidica codificante per sequenze antisense o ribozimi, insieme alla relativa cas-

setta di espressione; essi sono amplificati in batteri in localizzazione extra-cromosomale. Essi sono usati per trasferire materiale genetico a cellule somatiche umane *in vivo* o per modificare geneticamente cellule autologhe, allogene, xenogene o batteriche prima di somministrarle nell'uomo. I vettori plasmidici possono essere presentati come DNA nudo oppure essere formulati con sistemi sintetici di trasporto come lipidi ("lipoplexes"), polimeri ("polyplexes") e/o ligandi peptidici che facilitano il trasporto attraverso la membrana cellulare all'interno della cellula, o che indirizzano il trasporto tramite recettori specifici.

I vettori plasmidici formulati con sistemi sintetici di trasporto esulano dallo scopo di questo capitolo.

PRODUZIONE

COSTRUZIONE DEL PLASMIDE

Un tipico vettore plasmidico è composto da:

- lo scheletro del vettore plasmidico contenente molti siti di riconoscimento per endonucleasi di restrizione, che servono per inserire il gene di interesse, e gli elementi batterici necessari per la produzione del plasmide, come marcatori genetici selezionabili per l'identificazione delle cellule che contengono il vettore ricombinante;
- gli elementi genetici regolatori necessari a facilitare l'espressione del gene inserito;
- il gene inserito;
- un segnale di poliadenilazione.

Il DNA plasmidico, compresa la sua sequenza nucleotidica, è descritto in modo completo con l'identificazione, la sorgente, i modi di isolamento e la sequenza nucleotidica del gene inserito. Documentare la sorgente e la funzione di parti componenti il plasmide, come l'origine di replicazione, i promotori virali e eucariotici, i geni che codificano per marcatori selezionabili.

INDICAZIONI GENERALI

Banche cellulari. La produzione di vettori plasmidici è basata su un sistema di banche cellulari batteriche, con preparazione e caratterizzazione di una banca cellulare primaria (MCB), di una banca cellulare di lavoro (WCB) e di una banca cellulare di fine produzione (EOPC), le quali soddisfano i requisiti descritti nella sezione "Cellule batteriche usate per la produzione di vettori plasmidici per uso umano" presente alla fine di questo capitolo generale. I materiali e reattivi usati

durante il processo di produzione, compreso quello di preparazione delle banche cellulari, sono sottoposti a qualifica.

Tecniche di selezione. Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, nel costruito del vettore non sono inseriti geni che codificano per la resistenza ad antibiotici, in particolare per quelli clinicamente utili, usati come marcatori selezionabili. Si preferiscono altre tecniche di selezione del plasmide ricombinante.

Standards di riferimento. Caratterizzare completamente un adeguato lotto di plasmide formulato, preferibilmente uno che sia stato valutato negli studi clinici, e conservarlo per usarlo, quando necessario, come standard di riferimento nei saggi di controllo abituali.

PROPAGAZIONE E RACCOLTA

Trasferire il DNA plasmidico alle cellule batteriche del ceppo ospite ed espandere un singolo clone di batteri trasformati per creare la MCB. Da questa si ottiene la WCB. La EOPC si ottiene dalla WCB per fermentazione nelle condizioni di produzione.

Isolare il DNA plasmidico dalle cellule raccolte mediante un passaggio di estrazione e purificarlo per ottenere il prodotto in bulk.

Tranne nei casi in cui sia stato diversamente giustificato e autorizzato, per la produzione non si usano gradienti di densità in cloruro di cesio-bromuro di etidio.

PLASMIDE PURIFICATO

Si ottimizza il processo di produzione allo scopo di rimuovere in modo riproducibile le impurezze e allo stesso tempo conservare l'attività del prodotto. Il requisito di effettuare saggi per una particolare impurezza dipende dalle seguenti condizioni:

- se è stato dimostrato nella convalida di processo, usando specifici metodi quantitativi, che il processo di produzione e purificazione è capace di rimuovere o inattivare l'impurezza
- se all'impurezza è associata una potenziale tossicità;
- se all'impurezza è associata una potenziale diminuzione dell'efficacia del prodotto del gene inserito.

Se per la selezione è stata usata la resistenza selettiva ad antibiotici specifici, sono necessari dati da studi di convalida del processo di purificazione per dimostrare la capacità di rimozione degli antibiotici residui.

Si effettuano pertinenti controlli in corso di produzione per assicurare che il processo sia tenuto continuamente

sotto controllo, per esempio quantità e forma del plasmide e quantità di endotossine dopo i passaggi di estrazione.

Si può usare solo un lotto di plasmide purificato che soddisfi i seguenti requisiti.

Identità e integrità del plasmide purificato. L'identità e l'integrità del plasmide purificato sono determinate per mezzo di metodi adeguati come sequenziamento o NAT (2.6.21); si può effettuare un'analisi con enzimi di restrizione se è sufficiente a rivelare nel plasmide potenziali modificazioni critiche e a confermare la sua identità.

DNA plasmidico. Le seguenti indicazioni sono fornite a titolo di esempio.

Usando la misurazione dell'assorbanza a 260 nm si possono determinare concentrazioni di DNA maggiori di 500 ng/ml. Una soluzione 50 µg/ml di DNA a doppia elica ha un'assorbanza di 1 (assorbanza specifica 200).

Si possono determinare concentrazioni di DNA inferiori a 500 ng/ml a seguito di incubazione con coloranti fluorescenti che si legano al DNA a doppia elica in modo specifico, usando uno standard di DNA di riferimento per stabilire una curva di calibrazione.

Si può usare anche la cromatografia liquida per determinare la concentrazione del DNA plasmidico usando uno standard di riferimento. In alcuni casi, anche l'elettroforesi capillare è accettabile.

Forme del DNA. Si caratterizza il DNA plasmidico per la proporzione tra forme superavvolte, multimeriche, monomeriche rilassate e lineari, usando metodi analitici adeguati, dei quali si forniscono sotto alcuni esempi. Per la determinazione quantitativa delle forme superavvolte, si possono usare la cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) a scambio anionico oppure l'elettroforesi capillare. L'elettroforesi capillare è adatta anche per quantificare le altre forme.

DNA residuo derivato dalle cellule ospiti. Il contenuto di DNA residuo derivato dalle cellule ospiti è determinato usando un adeguato metodo, a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne un'adeguata rimozione. Si raccomanda di usare la reazione a catena della polimerasi (PCR) quantitativa per la sua sensibilità e specificità, ma si possono anche usare altre tecniche adeguate.

RNA residuo. Si determina il contenuto di RNA residuo, a meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne un'adeguata rimozione. Si possono usare HPLC in fase inversa (RP-HPLC) o la reazione a

catena della polimerasi con trascrizione inversa (RT-PCR) quantitativa (2.6.21) se è richiesto un limite di sensibilità inferiore.

Proteine residue derivate dalle cellule ospiti. A meno che il processo sia stato convalidato per dimostrarne un'adeguata rimozione, si determina la concentrazione di proteine residue derivate dalle cellule ospiti usando dosaggi standard delle proteine (2.5.33), SDS-PAGE seguito da colorazione con argento, o dosaggi specifici con metodi immunologici come western blot o ELISA.

Controllo microbiologico. A seconda della preparazione, soddisfa il saggio di sterilità (2.6.1) oppure si determina la carica microbica (2.6.12).

Endotossine batteriche (2.6.14). Inferiore al limite approvato per quella particolare preparazione.

LOTTO FINALE IN BULK

Parecchie raccolte purificate possono essere riunite durante la preparazione del lotto finale in bulk. Si possono aggiungere uno stabilizzante e altri eccipienti. Il prodotto formulato è filtrato attraverso un filtro che trattiene i batteri.

Si può usare per la preparazione del lotto finale solo un lotto finale in bulk che soddisfi i seguenti requisiti.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa il saggio di sterilità, eseguito su 10 ml per ciascun terreno.

LOTTO FINALE

Si può rilasciare per l'uso solo un lotto finale che soddisfi ciascuno dei requisiti elencati di seguito in Identificazione, Saggi e Dosaggi. Il saggio per l'attività biologica serve anche per identificare il prodotto.

IDENTIFICAZIONE

Il vettore plasmidico è identificato mediante analisi digestiva di restrizione o mediante sequenziamento. Il saggio per l'attività biologica inoltre serve a identificare il prodotto.

SAGGI

I seguenti saggi sono effettuati sul lotto finale.

Aspetto.

pH (2.2.3). Nei limiti approvati per quella particolare preparazione.

Volume estraibile (2.9.17). Soddisfa il saggio per il volume estraibile.

Umidità residua (2.5.12). Nei limiti approvati per la particolare preparazione liofilizzata.

Forme del DNA. La percentuale di forma superavvolta monomerica specifica viene determinata come descritto per il plasmide purificato.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa il saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Inferiore al limite approvato per la particolare preparazione.

DOSAGGIO

DNA plasmidico. Non inferiore alla quantità riportata in etichetta, determinata per esempio con uno dei seguenti metodi.

Si possono determinare concentrazioni di DNA maggiori di 500 ng/ml usando la misurazione dell'assorbimento a 260 nm. Una soluzione 50 µg/ml di DNA a doppia elica ha un'assorbimento di 1 (assorbimento specifico 200).

Si possono determinare concentrazioni di DNA inferiori a 500 ng/ml a seguito di incubazione con coloranti fluorescenti che si legano in modo specifico al DNA a doppia elica, usando uno standard di DNA di riferimento per stabilire una curva di calibrazione.

Si può usare anche la cromatografia liquida per determinare la concentrazione del DNA plasmidico usando uno standard di riferimento. In alcuni casi, anche l'elettroforesi capillare è accettabile.

Attività biologica. In tutti i casi in cui sia possibile, si determina l'attività biologica mediante dosaggi biologici *in vivo* o *in vitro*. È necessario uno standard di riferimento ben definito e rappresentativo come controllo positivo per il dosaggio biologico. I dosaggi biologici usati per il dosaggio di vettori plasmidici generalmente comprendono la trasfezione *in vitro* di una pertinente linea cellulare, seguita dalla misura funzionale dell'espressione del gene inserito. Questi dosaggi funzionali forniscono informazioni sull'attività del prodotto codificato dal gene inserito piuttosto che sul livello di espressione del gene inserito stesso. Può essere necessario aggiungere al dosaggio biologico dosaggi con western blot e ELISA allo scopo di determinare l'integrità e la quantità del prodotto espresso.

ETICHETTA

L'etichetta indica:

- la concentrazione di DNA plasmidico;
- la dose raccomandata per l'uomo;
- per le preparazioni liofilizzate:
 - il nome e il volume del liquido che va aggiunto;
 - entro quanto tempo il prodotto deve essere usato dopo la ricostituzione.

CELLULE BATTERICHE USATE PER LA PRODUZIONE DI VETTORI PLASMIDICI PER USO UMANO

La produzione di vettori plasmidici per uso umano è basata sull'uso di un sistema di banche cellulari batteriche con preparazione e caratterizzazione di una banca cellulare primaria (MCB), di una banca cellulare di lavoro (WCB) e di una banca cellulare di fine produzione (EOPC). Una banca cellulare batterica per la produzione di vettori plasmidici è una collezione di fiale contenenti cellule batteriche conservate in condizioni definite, con composizione uniforme, e ottenuta da cellule miscelate derivate da un singolo clone di un ceppo ospite trasformato. La MCB ha una storia conosciuta e documentata; essa è stata preferibilmente ottenuta da una sorgente di deposito qualificata. La WCB si ottiene espandendo una o più fiale della MCB. I metodi e i reattivi usati per produrre la banca e le condizioni di conservazione sono documentati.

MCB e WCB sono qualificate sottoponendo a saggio una aliquota del materiale della banca oppure saggiando una sottocoltura della banca cellulare.

Dosaggio	Ceppo ospite	MCB	WCB	EOPC*
Identità e purezza				
Vitalità	+	+	+	+
Caratterizzazione ceppo batterico	+	+	-	+
Genotipo/fenotipo	+	+	-	+
Presenza del plasmide				
Sequenza del DNA plasmidico	-	+	-	+
Numero di copie	-	+	+	+
Mappa di restrizione	-	+	+	+
Percentuale di cellule che mantengono il plasmide	-	+	+	+
Agenti avventizi				
Purezza su piastra	+	+	+	+
Presenza di batteriofagi	+	+	-	+

* Le EOPC sono cellule ad un numero di passaggi almeno equivalente a quello usato in produzione. L'analisi deve essere effettuata una volta per convalidare ciascuna nuova WCB, tranne che per la purezza che deve essere controllata per ogni fermentazione.

SAGGI DI IDENTITÀ E PUREZZA

Vitalità. Determinare il numero di cellule vitali seminando un'aliquota diluita di cellule batteriche su piastra con un terreno appropriato e contando le singole colonie.

Caratterizzazione biochimica e fisiologica del ceppo batterico. A seconda del ceppo batterico usato per la produzione, effettuare una pertinente caratterizzazione biochimica e fisiologica per confermare l'identità delle cellule a livello di specie.

Genotipo/fenotipo. Verificare il genotipo delle cellule batteriche mediante la determinazione di marcatori fenotipici specifici adeguati o mediante appropriata analisi genetica.

Presenza del plasmide

Sequenziamento. Verificare l'intera sequenza nucleotidica del plasmide.

Numero di copie. Da un numero noto di batteri isolare e purificare il DNA plasmidico e determinare il numero di copie mediante un metodo convalidato come la PCR quantitativa (2.6.2I).

Mappa di restrizione. Effettuare una digestione con enzimi di restrizione con sufficiente risoluzione per verificare che nelle cellule batteriche la struttura del plasmide non sia alterata.

Percentuale di cellule che mantengono il plasmide. Si usano elementi batterici presenti nel plasmide, come marcatori genetici di selezione, per determinare la percentuale di batteri che mantengono il plasmide.

AGENTI AVVENTIZI E VIRUS ENDOGENI

Purezza su piastra. Strisciare le cellule batteriche su terreno adatto ed incubare nelle condizioni necessarie a rivelare la presenza di potenziali batteri contaminanti. Allo scopo di saggiare l'inibizione di crescita di organismi contaminanti, effettuare saggi aggiuntivi in presenza di una quantità definita di appropriati controlli batterici positivi. Esaminare un numero adeguato di colonie; non si evidenzia alcuna contaminazione.

Presenza di batteriofagi. Disporre su piastra le cellule batteriche ed incubare in un terreno che permette la proliferazione dei batteriofagi, per saggiarne la presenza. Il saggio è convalidato usando un ceppo di batteriofagi di riferimento e cellule permissive come controllo positivo. Esaminare un numero adeguato di colonie; non si evidenzia alcuna contaminazione.

5.15. Caratteristiche legate alla funzionalità degli eccipienti

5.15.	Caratteristiche legate alla funzionalità degli eccipienti	819
-------	---	-----

5.15. CARATTERISTICHE LEGATE ALLA FUNZIONALITÀ DEGLI ECCICIENTI

Questo capitolo e le sezioni Caratteristiche Legate alla Funzionalità (CLF) delle monografie specifiche non sono obbligatorie e vengono pubblicate per informazione e guida.

PREAMBOLO

Alcuni eccipienti che sono stati valutati in precedenza per la loro sicurezza d'uso vengono impiegati nella formulazione di preparazioni farmaceutiche al fine di conferire funzionalità alla formulazione stessa.

La funzione di un eccipiente è quella di garantire le richieste proprietà fisiche e biofarmaceutiche della preparazione farmaceutica.

La funzionalità che ci si aspetta di un eccipiente è determinata dalle sue proprietà fisiche e chimiche e, in alcuni casi, del suo contenuto di sottoprodotti o di additivi utilizzati per migliorare la funzionalità richiesta. Inoltre la funzionalità può dipendere da complesse interazioni tra i costituenti della formulazione e da situazioni correlate al processo. La funzionalità di un eccipiente può pertanto essere valutata solo nel contesto di una particolare formulazione e di un processo di fabbricazione e mediante l'uso di un elevato numero di metodi analitici. La conoscenza della funzionalità degli eccipienti può facilitare l'applicazione dell'andamento di analisi dei processi detto Process Analytical Technology (PAT).

Certe proprietà degli eccipienti, come le dimensioni delle particelle per un eccipiente destinato ad una forma di dosaggio solida o la massa molecolare per un polimero utilizzato come agente per aumentare la viscosità, possono rapportarsi alla funzionalità in un senso più generale. Queste proprietà, dette caratteristiche legate alla funzionalità (CLF), possono essere controllate e costituire l'oggetto di specifiche proprie del prodotto considerato quando i lavori di sviluppo farmaceutico hanno mostrato il loro ruolo critico nei confronti del processo di fabbricazione e degli attributi di qualità della preparazione finale.

Le monografie della Farmacopea Europea sugli eccipienti hanno l'obiettivo di assicurare una qualità accettabile per gli utilizzatori. Le informazioni sull'aspetto ed i caratteri dell'eccipiente, i requisiti concernenti l'identità, la purezza chimica e microbiologica e le caratteristiche fisiche associate con la struttura, quale il

potere rotatorio, sono riportate nelle monografie specifiche e nella monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*.

Le CLF sono elencate nelle monografie degli eccipienti per aiutare i fabbricanti dei prodotti farmaceutici a stabilire delle specifiche basate su dei metodi analitici normalizzati. Esse costituiscono per i fabbricanti e gli utilizzatori un linguaggio comune che facilita la fornitura di eccipienti con proprietà specifiche. Il fabbricante di un eccipiente può fare menzione delle CLF, per esempio sul certificato di analisi, con riferimento alla monografia della Farmacopea, indicando così il metodo utilizzato per valutare le caratteristiche in questione. La sezione CLF delle monografie specifiche contiene le CLF aventi un impatto riconosciuto sulla funzionalità dell'eccipiente per le utilizzazioni indicate. L'elenco degli usi, così come quello delle CLF, non è esaustivo a causa delle molteplici utilizzazioni di numerosi eccipienti e dello sviluppo di nuovi usi.

QUADRO REGOLAMENTARE (GUIDA REGOLATORIA)

In base ai testi regolatori in vigore, per esempio la linea guida ICH Q8 sullo sviluppo farmaceutico, la documentazione per la richiesta di autorizzazione al commercio deve descrivere gli eccipienti scelti, la loro concentrazione e dimostrare le caratteristiche che possono influenzare la "performance" della preparazione finale e la fattibilità connessa con la rispettiva funzione di ogni eccipiente. Deve essere egualmente dimostrata l'attitudine degli eccipienti ad assicurare la funzionalità prevista nell'ambito di tutto il periodo di stabilità della formulazione. Le informazioni relative alla "performance" degli eccipienti possono essere usate, se necessario, per giustificare la scelta e gli attributi di qualità degli eccipienti stessi.

Gli eccipienti vengono normalmente fabbricati mediante sistemi di produzione per lotti; conseguentemente è possibile, anche per lo stesso produttore, una certa variabilità da un lotto all'altro.

Gli eccipienti provenienti da produttori diversi possono non avere proprietà identiche in rapporto al loro uso in una specifica formulazione. L'inevitabile variazione nelle loro proprietà chimiche e fisiche costituisce la più importante variabile suscettibile di influenzare un processo di produzione farmaceutica; gli eccipienti infatti compongono la maggiore proporzione di un prodotto finito. Molti eccipienti sono di origine naturale, costituiti da una miscela di composti chimicamente correlati. Altri eccipienti vengono fabbricati mediante impianti chimici realizzati per la produzione di

sostanze utilizzate da industrie diverse da quelle farmaceutiche. Ne consegue che il processo di fabbricazione di un eccipiente può essere focalizzato sulle caratteristiche chimiche e su alcune proprietà fisiche richieste per il principale mercato del produttore; in molti casi quest'ultimo ha una limitata conoscenza dell'uso farmaceutico del suo prodotto.

La chiave per una formulazione ben riuscita e robusta è quella di comprendere la natura chimica e fisica della(e) sostanza(e) attiva(e) e degli eccipienti isolati e come le loro proprietà danno luogo ad interazioni con gli altri costituenti della formulazione e con il processo di fabbricazione.

Durante lo sviluppo farmaceutico vengono identificate quelle proprietà dei costituenti che sono critiche nei confronti del processo di fabbricazione e della "performance" della preparazione finale.

Una volta identificate le proprietà critiche degli eccipienti, preferibilmente mediante un approccio basato sul rischio, lo sviluppo farmaceutico può stabilire l'intervallo accettabile delle caratteristiche critiche includendo la variazione delle proprietà chimiche e fisiche.

Le CLF in questione possono non essere proprietà controllate dal produttore dell'eccipiente; sono pertanto proprietà variabili. E' preferibile ricorrere ad un robusto processo di fabbricazione del prodotto medicinale che limiti l'effetto della normale variabilità degli eccipienti.

QUALITÀ FISICHE

Gli eccipienti costituiti da particelle solide sono disponibili con diverse qualità fisiche come per esempio nei confronti della distribuzione delle dimensioni delle particelle che, di norma, è controllata dal fornitore dell'eccipiente.

Tuttavia le CLF per i solidi riguardano proprietà molto diverse (derivanti da proprietà di stato solido e proprietà delle particelle solide) che possono non essere controllate dal fornitore dell'eccipiente.

Esempi di proprietà di stato solido da prendere in considerazione nello sviluppo di una forma di dosaggio solida includono il polimorfismo, lo pseudopolimorfismo, la cristallinità e la densità. Tecniche complementari per lo studio delle forme cristalline e solvati sono riportate nei seguenti capitoli generali:

- 5.9. *Polimorfismo*;
- 2.2.34. *Analisi termica*
- 2.9.33. *Caratterizzazione dei solidi cristallini e parzialmente cristallini mediante diffrazione X su polveri*;

– 2.2.42. *Densità dei solidi*;

– 2.9.23. *Densità picnometrica dei solidi*.

Esempi di proprietà di solidi costituiti da particelle sono la distribuzione delle dimensioni delle particelle, l'area superficiale specifica, la densità di "bulk", la scorrevolezza, la bagnabilità e l'assorbimento dell'acqua. La distribuzione delle dimensioni delle particelle può, in funzione dell'intervallo delle dimensioni, essere determinata mediante setacciatura analitica (vedi il capitolo generale 2.9.38. *Distribuzione delle dimensioni delle particelle mediante setacciatura analitica*) o metodi strumentali come per esempio 2.9.31. *Analisi della dimensione delle particelle mediante diffrazione alla luce laser*. Il metodo 2.9.26. *Area superficiale specifica mediante adsorbimento dei gas* è basato sulla tecnica detta BET. Metodi per caratterizzare la scorrevolezza e la densità di "bulk" delle polveri sono descritti nei capitoli generali 2.9.36. *Scorrimento delle polveri* e 2.9.34. *Densità di insieme (Bulk density) e densità da compressione (Tapped density) delle polveri*. Le proprietà di stato solido possono influenzare la bagnabilità e le interazioni acqua-solido delle particelle solide. Diversi metodi strumentali permettono di determinare queste caratteristiche, per esempio, tecniche per misurare gli angoli di contatto statici e dinamici e le misure gravimetriche di assorbimento dell'acqua e/o l'analisi gravimetrica.

QUALITÀ CHIMICHE

Gli eccipienti disponibili con diverse qualità chimiche sono di origine naturale, semi-sintetica o sintetica. Le monografie specifiche generalmente controllano la composizione chimica degli eccipienti costituiti da una miscela di sostanze correlate, per esempio la composizione degli acidi grassi negli oli vegetali o dei surfattanti. Tuttavia nella Farmacopea sono presenti monografie specifiche ognuna descrivente una classe di materiali polimerici di composizione variabile sia nei confronti della struttura degli omopolimeri, dei polimeri a blocchi e dei copolimeri che rispetto al grado di polimerizzazione e conseguentemente alla massa molecolare e alla distribuzione della massa molecolare, al grado di sostituzione ed anche in certi casi alla natura dei sostituenti associati alla catena polimerica principale. Tale variabilità può avere un effetto considerevole sulla funzionalità dell'eccipiente e dovrebbe essere sottoposta ad indagini nella fase dello sviluppo farmaceutico, preferibilmente per definire l'intervallo di accettabilità di ciascuna delle caratteristiche identificate come critiche nel processo di fabbricazione e nella "performance" del prodotto finale.

Mentre, nel passato, la parte obbligatoria delle monografie sugli eccipienti polimerici poteva contenere alcuni saggi per le caratteristiche fisiche o chimiche, come ad esempio un saggio per la viscosità con inclusi i criteri di accettazione, ora si tende a spostare gradualmente tali saggi nella parte non obbligatoria della sezione CLF, a meno che la relativa caratteristica costituisca una parte indispensabile dei saggi di identificazione.

Questa evoluzione avviene alla luce delle linee guida regolatorie sullo sviluppo farmaceutico e della desiderata flessibilità regolatoria basata sulla definizione di un intervallo accettabile delle proprietà del materiale entro i limiti designati. Conseguentemente la valutazione delle qualità chimiche e, quando appropriato, la definizione delle caratteristiche critiche costituiscono parte integrante dello sviluppo farmaceutico indipendentemente dal carattere non obbligatorio delle CLF.

LA SEZIONE DELLE CARATTERISTICHE LEGATE ALLA FUNZIONALITÀ NELLE MONOGRAFIE

Le monografie sugli eccipienti possono avere una sezione dal titolo “Caratteristiche legate alla funzionalità”. Questa sezione viene inclusa per informazione e non è una parte obbligatoria della monografia; contiene un elenco delle caratteristiche identificate come rilevanti per certi usi dell’eccipiente. Viene anche indicato l’uso per il quale la caratteristica è ritenuta rilevante. Per altri usi la stessa caratteristica può essere irrilevante. Per questa ragione tale sezione non dovrebbe essere considerata come un semplice addendo alla monografia stessa. È responsabilità del fabbricante del prodotto medicinale decidere come l’informazione sulle CLF dovrà essere applicata nel processo di fabbricazione alla luce del previsto uso dell’eccipiente e dei dati derivanti dallo sviluppo farmaceutico.

L’informazione sulle CLF può essere data in diversi modi:

- nome della CLF;
- nome della CLF ed il metodo raccomandato per la sua determinazione, facendo riferimento quando possibile ad un capitolo generale della Farmacopea;
- nome della CLF, metodo raccomandato per la sua determinazione e criteri d’accettazione critici che possono essere dati sotto forma di tolleranza in rapporto al valore nominale.

Una data caratteristica può costituire l’oggetto di una esigenza a carattere obbligatorio ed essere menzionata nella sezione CLF della monografia. Così il grado di

polimerizzazione è utilizzato nella sezione Identificazione, avente carattere obbligatorio, delle monografie relative alla cellulosa microcristallina ed alla cellulosa in polvere, in modo da poter distinguere i due prodotti. Il grado di polimerizzazione della cellulosa microcristallina non è più grande di 350 mentre quello della cellulosa in polvere è compreso tra 440 e 2250. Il grado di polimerizzazione effettivo è essenziale per certi usi ed è conseguentemente citato come CLF pertinente che il fabbricante farmaceutico può decidere di specificare per la particolare qualità della sostanza utilizzata per una data preparazione farmaceutica.

Si suppone che la sezione CLF rifletta l’attuale conoscenza sulle principali utilizzazioni di un eccipiente. Essa può non essere esaustiva a causa dei molti usi di alcuni eccipienti e del costante sviluppo di nuove utilizzazioni. Inoltre i metodi menzionati per la determinazione di una data caratteristica sono citati a titolo di raccomandazione in quanto dimostratisi soddisfacenti per l’utilizzazione considerata; comunque non è escluso l’uso di altri metodi.

ARMONIZZAZIONE INTERNAZIONALE

Un certo numero di monografie di eccipienti costituiscono l’oggetto del processo di armonizzazione tra le Farmacopee degli Stati Uniti, la Farmacopea Giapponese e la Farmacopea Europea (vedi il capitolo 5.8. *Armonizzazione delle farmacopee*). L’introduzione della sezione CLF nelle monografie della Farmacopea Europea significa che ci saranno delle differenze di presentazione tra le monografie armonizzate. I saggi per le caratteristiche fisiche e chimiche considerate connesse alla funzionalità che sono presenti nella sezione Saggi della Farmacopea Europea vengono inclusi, nelle altre due farmacopee, nel testo della monografia. Questo diverso formato non ha conseguenze sulle specifiche stabilite dal fabbricante farmaceutico per le caratteristiche dell’eccipiente. I testi regolatori in vigore raccomandano unicamente che siano identificate e specificate quelle proprietà critiche aventi un impatto sul processo di fabbricazione e sulla “performance” del prodotto finito. I diversi contorni legislativi delle tre farmacopee permettono che le monografie abbiano un formato differente che non influenza il loro stato di monografie armonizzate.

GLOSSARIO

Caratteristica critica: qualunque caratteristica fisica o chimica di un composto dimostratasi avere un impatto significativo sulla fabbricabilità e/o performance del prodotto medicinale.

Caratteristica legata alla funzionalità: una caratteristica fisica o chimica controllabile di un eccipiente che ha mostrato di avere un impatto sulla funzionalità dell'eccipiente stesso.

Controllo della funzionalità: controllo diretto della funzione attesa di un eccipiente in una particolare formulazione ed in un dato processo di fabbricazione per accertare che l'eccipiente apporti la funzionalità voluta.

Design space: la combinazione e l'interazione multidimensionale delle variabili di "input" (per esempio gli attributi del materiale) e dei parametri del processo che hanno dimostrato di provvedere alla assicurazione di qualità.

Robustezza del processo: la capacità di un processo a tollerare, senza alcun impatto negativo sulla qualità, una certa variabilità dei materiali utilizzati e cambiamenti del processo e delle apparecchiature.

Saggi di "performance": i saggi analitici sulle proprietà critiche della preparazione farmaceutica.

MONOGRAFIE

Monografie generali

Anticorpi monoclonali per uso umano	827	Prodotti allergenici	849
Droghe vegetali	831	Prodotti di fermentazione	852
Estratti	832	Prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante	854
Essenze	834	Sierimmuni di origine animale per uso umano	858
Oli grassi vegetali	837	Sierimmuni per uso veterinario	861
Piante per tisane	839	Sostanze per uso farmaceutico	866
Preparazioni a base di droghe vegetali	840	Vaccini per uso umano	869
Preparazioni radiofarmaceutiche	840	Vaccini per uso veterinario	874
Prodotti aventi il rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali	849		

ANTICORPI MONOCLONALI PER USO UMANO

Anticorpora monoclonalia
ad usum humanum

DEFINIZIONE

Gli anticorpi monoclonali per uso umano sono preparazioni di un'immunoglobulina o di un frammento di immunoglobulina per esempio F(ab')₂, con specificità definita, prodotte da un singolo clone di cellule. Essi possono essere coniugati con altre sostanze, in particolare nel caso della radiomarcatura.

Essi possono essere ottenuti da linfociti B immortalizzati che sono clonati ed espansi come linee cellulari continue o da linee cellulari ottenute con la tecnologia del DNA ricombinante.

Gli anticorpi ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante attualmente disponibili comprendono gli anticorpi riportati di seguito.

Anticorpi monoclonali chimerici: i domini variabili della catena pesante e della catena leggera di un anticorpo umano sono sostituiti da quelli di una specie umana che possiedono la specificità antigenica desiderata.

Anticorpi monoclonali umanizzati: le 3 sequenze corte ipervariabili, ("complementarity determining regions"), dei domini variabili non umani di ciascuna catena sono inserite (ingegnerizzate) nel dominio variabile di un anticorpo umano. Possono essere apportate altre modifiche ad alcune sequenze per migliorare il legame dell'antigene.

Anticorpi monoclonali umani ricombinati: il dominio variabile della catena pesante e quello della catena leggera di un anticorpo umano sono combinati con la regione costante di un anticorpo umano.

Gli anticorpi monoclonali ottenuti a partire da linee cellulari modificate con la tecnologia del DNA ricombinante soddisfano anche ai requisiti della monografia *Prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante (0784)*.

Questa monografia si applica agli anticorpi monoclonali usati in terapia e in profilassi e a quelli destinati alla diagnostica *in vivo*. Non si applica agli anticorpi monoclonali utilizzati come reattivi nella fabbricazione dei medicinali. Non si applica più agli anticorpi monoclonali prodotti in ascite che sono oggetto di requisiti stabiliti dall'Autorità competente.

PRODUZIONE

DISPOSIZIONI GENERALI

La produzione è basata su un sistema di lotto di semenza che comprende una banca di cellule primarie e, se del caso, una banca di cellule di lavoro derivato da cellule clonate. Il metodo di produzione è convalidato nel corso degli studi di sviluppo in modo da prevenire la trasmissione di agenti infettivi attraverso il prodotto finale. Tutti i materiali biologici e le cellule utilizzati nella produzione sono caratterizzati e sono conformi alle disposizioni del capitolo 5.2.8. *Minimizzazione del rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali attraverso i prodotti medicinali per uso umano e veterinario*. Quando la fabbricazione degli anticorpi monoclonali per uso umano prevede l'uso di materiali di origine umana o animale, si applicano anche i requisiti del capitolo 5.1.7. *Sicurezza virale*. Quando si utilizza un agente immunogeno, questo è caratterizzato e il metodo di immunizzazione è descritto e documentato.

Convalida del processo. Durante gli studi di sviluppo, il metodo di produzione è convalidato per gli aspetti seguenti:

- consistenza (regolarità) del processo di produzione, compresi i metodi di fermentazione, di purificazione e, nei casi appropriati, di frammentazione;
- eliminazione o inattivazione degli agenti infettivi;
- eliminazione adeguata delle impurezze associate al prodotto ed al procedimento (per es., proteine e DNA della cellula ospite, proteina A, antibiotici, componenti delle colture cellulari);
- specificità e attività specifica dell'anticorpo monoclonale;
- assenza di pirogeni diversi dalle endotossine;
- riutilizzabilità dei componenti che intervengono nella purificazione (per es., materiale delle colonne) con limiti o criteri di accettazione definiti in funzione della convalida;
- metodi utilizzati per la coniugazione, se del caso.

Caratterizzazione del prodotto. Caratterizzare il prodotto allo scopo di raccogliere informazioni adeguate comprendenti: l'integrità strutturale, l'isotipo, la sequenza degli aminoacidi, la struttura secondaria, la frazione glucidica, i ponti disolfuro, la conformazione, la specificità, l'affinità, l'attività biologica specifica e l'eterogenicità (caratterizzazione delle isoforme).

Utilizzare un insieme di tecniche analitiche appropriate che comprende metodi chimici, fisici, immunochimici e biologici (per es., mappa peptidica, sequenziamento

N- terminale e *C*-terminale, spettrometria di massa, tecniche cromatografiche, elettroforetiche e spettroscopiche). Effettuare ulteriori saggi per raccogliere informazioni sulla reattività crociata con i tessuti umani. Nel caso di prodotti modificati mediante frammentazione o coniugazione, caratterizzare l'influenza sull'anticorpo dei metodi utilizzati.

Intermedi di processo. Quando sono conservati intermedi di processo, stabilire per ciascuno di essi una data di scadenza o un periodo di conservazione sulla base dei dati di stabilità.

Dosaggio biologico. Scegliere il dosaggio dell'attività biologica in funzione della sua correlazione con il meccanismo di azione dell'anticorpo monoclonale.

Preparazione di riferimento. Utilizzare come preparazione di riferimento per l'identificazione, i saggi e la determinazione quantitativa, un lotto che ha dimostrato di essere stabile e di essere appropriato negli studi clinici o un lotto rappresentativo di questo. Caratterizzare appropriatamente la preparazione di riferimento come definito nella sezione Caratterizzazione del prodotto e, a parte questo, non è necessario esaminare la reattività crociata per ciascun lotto della preparazione di riferimento.

Definizione di un lotto. La definizione di un lotto (compresa la dimensione) è richiesta durante tutto il processo.

CELLULE MADRI

Le cellule madri comprendono le cellule di fusione, i linfociti, le cellule di mieloma, le cellule nutrici e le cellule ospiti per l'espressione dell'anticorpo monoclonale ricombinante.

Documentare l'origine e la caratterizzazione delle cellule parenterali, comprese le informazioni sullo stato di salute dei donatori e le cellule utilizzate per la fusione (per es. linea cellulare di mieloma, linea cellulare linfoblastoide B umana).

Quando possibile sottoporre le cellule madri ad una ricerca appropriata per evidenziare agenti estranei ed agenti endogeni. La scelta dei virus da ricercare dipende dalla specie e dal tessuto di origine.

LINEA CELLULARE PRODUTTRICE DELL'ANTICORPO MONOCLONALE

Dimostrare l'idoneità della linea cellulare che produce l'anticorpo monoclonale mediante:

- la documentazione relativa alla storia della linea cellulare, compresa la descrizione delle procedure di fusione cellulare, di immortalizzazione o di transfezione e di clonazione;

- la caratterizzazione della linea cellulare (per es. fenotipo, analisi degli isoenzimi, dei marcatori immunochimici e dei marcatori citogenetici);

- la caratterizzazione delle principali caratteristiche dell'anticorpo;

- la stabilità della secrezione dell'anticorpo rispetto alle caratteristiche dell'anticorpo, al livello di espressione e di glicosilazione fino al livello uguale o superiore al raddoppio della popolazione o al numero di generazioni utilizzato nella produzione di routine;

- per i prodotti ottenuti con la tecnica del DNA ricombinante, la stabilità delle caratteristiche genetiche e fenotipiche dell'ospite/vettore fino al livello uguale o superiore al raddoppio della popolazione o al numero di generazioni utilizzato per la produzione di routine.

BANCHE DI CELLULE

La banca di cellule primarie è una sospensione omogenea della linea cellulare produttrice dell'anticorpo monoclonale, ripartita in una sola operazione in volumi uguali in recipienti singoli per la conservazione.

Una banca di cellule di lavoro è una sospensione omogenea di materiale cellulare ottenuto dalla banca di cellule primarie a un livello definito di passaggi, ripartita in una sola operazione in volumi uguali, in recipienti singoli, per la conservazione.

Le cellule post-produzione sono cellule coltivate fino al livello di raddoppio della popolazione o al numero di generazioni utilizzato nella produzione di routine.

Effettuare sulla banca di cellule primarie i saggi seguenti: vitalità, identità, sterilità (batteri, funghi, micoplasmi), caratterizzazione dell'anticorpo monoclonale prodotto. Valutare la contaminazione da virus non-endogeni mediante una serie appropriata di saggi *in vivo* e *in vitro*.

Valutare la contaminazione ad opera di retrovirus ed altri virus endogeni mediante una serie appropriata di saggi *in vitro*.

Effettuare sulla banca di cellule di lavoro i saggi seguenti: vitalità, identità, sterilità (batteri, funghi, micoplasmi). Valutare mediante una serie appropriata di saggi *in vivo* e *in vitro* la contaminazione da virus estranei. Per la prima banca di cellule di lavoro effettuare questi saggi sulle cellule post-produzione generate da questa banca di cellule di lavoro; per le banche di cellule di lavoro successive può essere effettuato un solo saggio *in vitro* e *in vivo*, sia direttamente sulla banca di cellule di lavoro sia sulle cellule post-produzione.

Per la banca di cellule primarie e la banca di cellule di lavoro, effettuare le ricerche di virus specifici quando è utilizzato materiale biologico potenzialmente contaminato nella preparazione delle banche di cellule, in funzione della specie di origine di questo materiale. Questa ricerca può non essere necessaria quando questo materiale è stato inattivato utilizzando procedure convalidate.

Effettuare sulle cellule post-produzione i saggi seguenti: sterilità (batteri, funghi, micoplasmi). Effettuare le ricerche di virus sulle cellule o sul soprannatante delle colture cellulari. Per questo, verificare la contaminazione di virus non endogeni mediante una serie appropriata di saggi *in vivo* e *in vitro*. Verificare la contaminazione da retrovirus ed altri virus endogeni mediante una serie appropriata di saggi *in vitro*.

COLTURA E RACCOLTA

Produzione a un livello finito di passaggi (raccolta singola). Coltivare le cellule fino a un numero massimo definito di passaggi o al raddoppio di popolazione (che è funzione della stabilità della linea cellulare). Effettuare la raccolta del prodotto in una sola operazione.

Produzione in coltura continua (raccolta multipla). Coltivare le cellule in continuo per un periodo di tempo definito (che è funzione della stabilità del sistema e della consistenza della produzione). Il controllo è necessario durante tutta la vita della coltura; la frequenza e il tipo dei controlli richiesti dipendono dalla natura del sistema di produzione.

Sottoporre a saggio ciascuna raccolta per il contenuto di anticorpo, la carica microbica, le endotossine e i micoplasmi. Effettuare saggi di routine generali o specifici per la ricerca di virus estranei ad uno stadio appropriato, in funzione della natura del processo di produzione e dei materiali utilizzati. Per i processi di produzione a un livello finito di passaggio (raccolta singola), sottoporre a saggio almeno 3 raccolte per la ricerca di virus estranei mediante una gamma appropriata di metodi *in vitro*.

Definire chiaramente i criteri di accettazione delle raccolte prima di un ulteriore processo e in relazione alla strategia di controllo applicata. Se si evidenzia la presenza di virus estranei, sottoporre ad un esame approfondito il procedimento per determinare la causa della contaminazione e non sottoporre la raccolta a trattamenti ulteriori. Non utilizzare per la purificazione le raccolte nelle quali sia stato riscontrato un virus endogeno, a meno che non sia stata definita una strategia appropriata per prevenire la trasmissione degli agenti infettivi attraverso il prodotto finale.

PURIFICAZIONE

Le raccolte possono essere riunite prima di ulteriori procedimenti. Il processo di purificazione comprende fasi che rimuovono e/o inattivano i virus capsulati e non-capsulati. Utilizzare un processo di purificazione convalidato per il quale sia stata dimostrata la capacità di eliminazione e/o di inattivazione degli agenti infettivi e di eliminazione dei prodotti e delle impurezze di processo. Fasi definite del processo danno luogo ad un anticorpo purificato con qualità e attività biologica costanti.

I saggi da effettuare sull'anticorpo monoclonale purificato dipendono dalla convalida del processo, dalla dimostrazione della consistenza e dal livello atteso di impurezze correlate al prodotto e al processo. L'anticorpo monoclonale purificato è sottoposto a saggio per la carica microbica, le endotossine batteriche, la purezza, l'integrità e l'attività biologica mediante metodi analitici appropriati, se necessario in confronto con la preparazione di riferimento.

Se è prevista la conservazione degli intermedi, si deve valutare l'adeguata stabilità di queste preparazioni e il suo impatto sulla qualità o validità del prodotto finito.

SOSPENSIONE MADRE FINALE

La sospensione madre finale è preparata da uno o più lotti di anticorpi monoclonali purificati. Durante la preparazione della sospensione madre finale possono essere aggiunti stabilizzanti appropriati ed altri eccipienti.

Solo una sospensione madre finale che soddisfa i requisiti riportati di seguito può essere utilizzata nella preparazione del lotto finale.

Sterilità (2.6.1). Effettuare il saggio usando 10 ml per ciascun terreno di coltura.

Endotossine batteriche (2.6.14). Soddisfa i limiti approvati per il particolare prodotto.

Impurezze di processo. Effettuare saggi appropriati per evidenziare le proteine derivate dalla cellula ospite, il DNA derivato dalla cellula ospite e dal vettore, e per altre impurezze di processo su un numero appropriato di sospensioni madre finali o di lotti di anticorpo monoclonale purificato. La sospensione madre finale soddisfa i limiti approvati per il particolare prodotto. Quando è stata dimostrata la consistenza (regolarità) del processo di purificazione, questi saggi possono essere successivamente omessi.

LOTTO FINALE

La sospensione madre finale è ripartita in maniera aseptica in recipienti sterili che sono poi chiusi per prevenire qualsiasi contaminazione.

CARATTERI

Le preparazioni liquide sono limpide o leggermente opalescenti, liquidi incolori o leggermente gialli, privi di particelle visibili. Le preparazioni liofilizzate sono polveri bianche o leggermente gialle o masse solide friabili. Dopo la ricostituzione esse mostrano le stesse caratteristiche delle preparazioni liquide.

IDENTIFICAZIONE

Stabilire l'identità mediante metodi convalidati appropriati in confronto con la preparazione di riferimento. Il dosaggio contribuisce anche all'identificazione.

SAGGI

Aspetto. I liquidi o le preparazioni liofilizzate ricostituite sono limpidi o leggermente opalescenti ed incolori o leggermente gialli, privi di particelle visibili.

Solubilità. Le preparazioni liofilizzate si disciolgono completamente, entro un tempo definito, nel volume prescritto di liquido di ricostituzione, e danno luogo a soluzioni limpide o leggermente opalescenti, prive di particelle visibili.

pH (2.2.3). Soddisfa ai limiti approvati per il particolare prodotto.

Osmolalità (2.2.35). Almeno 240 mosmol/kg, diluite per l'uso se del caso.

Volume estraibile (2.9.17). Soddisfa al saggio per il volume estraibile.

Proteine totali (2.5.33). Soddisfa ai limiti approvati per il particolare prodotto.

Distribuzione delle dimensioni molecolari. Determinare la distribuzione delle dimensioni molecolari mediante un metodo appropriato, per esempio, mediante cromatografia per esclusione (2.2.30). Soddisfa i limiti approvati per il particolare prodotto.

Identità molecolare e integrità strutturale. In funzione della natura dell'anticorpo monoclonale, delle sue micro-eterogeneità e delle sue isoforme, può essere utilizzato un numero differente di saggi per dimostrare l'identità molecolare e l'integrità strutturale. Questi saggi possono comprendere la mappa peptidica, la focalizzazione isoelettrica, la cromatografia a scambio ionico,

la cromatografia di interazione idrofobica, la mappa oligosaccaridica, il contenuto di monosaccaridi e la spettrometria di massa.

Purezza. Esaminare mediante un metodo convalidato approvato, come l'elettroforesi su gel di SDS-poliacrilamide (2.2.31) in condizioni riducenti e non riducenti o l'elettroforesi capillare (2.2.47). Effettuare saggi appropriati per il controllo delle impurezze di processo e di prodotto.

Stabilizzante. Se del caso, soddisfa i limiti approvati per il particolare prodotto.

Acqua (2.5.12). I prodotti liofilizzati soddisfano i limiti approvati per il particolare prodotto.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa il saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Soddisfa i limiti approvati per il particolare prodotto.

Saggi applicati agli anticorpi modificati. Effettuare saggi appropriati in base al tipo di modificazione realizzata.

DOSAGGIO

Effettuare un dosaggio appropriato in confronto con la preparazione di riferimento. Utilizzare i metodi statistici usuali (per es. 5.3) per stabilire il protocollo del dosaggio e il calcolo dei risultati.

CONSERVAZIONE

Come indicato in etichetta.

Data di scadenza. La data di scadenza è calcolata dalla data della filtrazione sterile, dalla data di riempimento (per le preparazioni liquide) o dalla data di liofilizzazione (se del caso).

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il numero di Unità Internazionali per millilitro, se del caso,
- la quantità di proteine per recipiente,
- la quantità di anticorpo monoclonale nel recipiente,
- per le preparazioni liquide, il volume della preparazione nel recipiente,
- per le preparazioni liofilizzate:
 - il nome e il volume del liquido da aggiungere per la ricostituzione,
 - il periodo di tempo entro il quale l'anticorpo monoclonale può essere utilizzato dopo la ricostituzione,
 - la diluizione da effettuare prima dell'uso del prodotto, se del caso.

DROGHE VEGETALI

Plantae medicinales

DEFINIZIONE

Le droghe vegetali sono essenzialmente piante intere, frammentate o tagliate, parti di piante, alghe, funghi, licheni in uno stato non trattato, generalmente in forma essiccata, ma talvolta fresche. Sono anche considerati droghe vegetali alcuni essudati che non sono stati sottoposti ad uno specifico trattamento. Le droghe vegetali vengono definite con precisione dal nome scientifico botanico secondo il sistema binomiale (genere, specie, varietà e autore).

PRODUZIONE

Le droghe vegetali si ottengono da piante coltivate o selvatiche. La qualità delle droghe vegetali viene garantita da adeguate procedure di campionamento, coltivazione, raccolta, essiccamento, frammentazione e condizioni di conservazione.

Le droghe vegetali sono, per quanto possibile, esenti da impurezze come terra, polvere, sporcizia e altri contaminanti come funghi, insetti e altre contaminazioni animali. Non devono essere in decomposizione.

Se è stato usato un trattamento di decontaminazione è necessario dimostrare che i costituenti della pianta non siano stati influenzati da tale trattamento e che non siano rimasti residui nocivi. Per la decontaminazione delle droghe vegetali è proibito l'uso di ossido di etilene.

IDENTIFICAZIONE

Le droghe vegetali vengono identificate mediante le loro descrizioni macroscopiche, microscopiche e con qualunque altro saggio che possa essere richiesto (per esempio, cromatografia su strato sottile).

SAGGI

Elementi estranei (2.8.2). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato si effettua il saggio per gli elementi estranei. Il contenuto di elementi estranei non è superiore al 2 per cento *m/m* se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato. Per le droghe vegetali che possono essere adulterate si applica un adeguato saggio specifico.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato si effettua il saggio per la perdita all'essiccamento.

Acqua (2.2.13). Per le droghe vegetali con un alto contenuto di essenza, può essere determinato il contenuto di acqua al posto della perdita all'essiccamento.

Pesticidi (2.8.13). Le droghe vegetali soddisfano ai requisiti per i residui di pesticidi. I requisiti prendono in considerazione la natura della pianta, quando necessario la preparazione nella quale la pianta potrebbe essere utilizzata e, se disponibile, la conoscenza della documentazione completa del trattamento del lotto della pianta.

Contaminazione microbica. Raccomandazioni sulla qualità microbiologica dei prodotti che sono costituiti solamente da una o da più droghe vegetali sono riportate nel testo *Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4.).

Quando necessario, le droghe vegetali soddisfano ad altri saggi, come ad esempio quelli di seguito riportati.

Ceneri totali (2.4.16).

Ceneri insolubili in acido cloridrico (2.8.1).

Sostanze estraibili.

Indice di rigonfiamento (2.8.4),

Indice di amarezza (2.8.15)

Metalli pesanti. Deve essere considerato il rischio di contaminazione delle droghe vegetali da metalli pesanti. Se una singola monografia non prescrive limiti per metalli pesanti o elementi chimici specifici, tali limiti, se giustificato, possono essere richiesti.

Aflatossine (2.8.18). Quando necessario, possono essere richiesti i limiti per le aflatossine.

Contaminazione radiattiva. In alcune circostanze specifiche si deve considerare il rischio della contaminazione radioattiva.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

La determinazione quantitativa delle droghe vegetali viene effettuata, salvo eccezioni giustificate ed autorizzate, mediante un metodo appropriato.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce.

ESTRATTI

Extracta

DEFINIZIONE

Gli estratti sono preparazioni di consistenza liquida (estratti liquidi e tinte), semisolida (estratti molli e oleoresine) o solida (estratti secchi), ottenute da droghe vegetali o da materiali di origine animale generalmente allo stato essiccato.

Se nella fabbricazione di medicinali sono utilizzati estratti di origine animale, sono applicati i requisiti del capitolo 5.1.7. *Sicurezza virale*.

Si possono distinguere diversi tipi di estratti. Gli estratti titolati sono aggiustati, con una tolleranza accettabile, ad un contenuto definito dei costituenti con attività terapeutica nota; l'aggiustamento del titolo dell'estratto è ottenuto mediante materiale inerte o mescolando più lotti di estratti. Gli estratti quantificati sono aggiustati ad un definito intervallo dei costituenti; l'aggiustamento viene effettuato mescolando più lotti di estratti. Altri tipi di estratti sono essenzialmente definiti dal loro processo di produzione (stato della droga vegetale o del materiale di origine animale da estrarre, solvente, condizioni di estrazione) e dalle loro specifiche.

PRODUZIONE

Gli estratti sono preparati mediante metodi appropriati usando etanolo o altri solventi idonei. Lotti differenti di droga vegetale o di materiale animale possono essere mescolati prima dell'estrazione. La droga vegetale o il materiale animale da estrarre può subire un trattamento preliminare come ad esempio l'inattivazione degli enzimi, la triturazione o la eliminazione del grasso. Inoltre le sostanze indesiderate possono essere eliminate dopo l'estrazione.

Le droghe vegetali, i materiali di origine animale e i solventi organici utilizzati per la preparazione degli estratti soddisfano alle pertinenti monografie della Farmacopea. Per gli estratti molli e secchi per i quali il solvente organico è eliminato mediante evaporazione, può essere usato il solvente recuperato o riciclato purché le procedure di recupero siano controllate e monitorate per assicurare che i solventi soddisfino appropriati standard prima del riutilizzo o del mescolamento con altri materiali approvati. L'acqua usata per la preparazione degli estratti deve essere di qualità appropriata. Ad eccezione del saggio per le endotossine batteriche, è idonea l'acqua che soddisfa la sezione sull'Acqua depurata in grande

volume della monografia *Acqua depurata (0008)*. L'acqua potabile può essere appropriata se soddisfa ad una definita specifica che consente una produzione riproducibile di un appropriato estratto.

Se del caso, la concentrazione alla consistenza voluta viene realizzata mediante procedimenti appropriati, generalmente a pressione ridotta e ad una temperatura alla quale il deterioramento dei costituenti è ridotto al minimo. Gli oli essenziali che sono stati separati durante il processo di estrazione possono essere riuniti agli estratti nella esecuzione di una appropriata fase del processo stesso. Eccipienti adeguati possono essere aggiunti nel corso delle diverse fasi del processo di produzione, per esempio, per migliorare le qualità tecnologiche come l'omogeneità o la consistenza. Possono anche essere aggiunti stabilizzanti appropriati e conservanti antimicrobici.

L'estrazione con un dato solvente porta a proporzioni tipiche dei costituenti caratterizzati nella materia estraibile; durante la produzione degli estratti titolati e di quelli quantificati possono essere applicate procedure di purificazione che aumentano queste proporzioni rispetto ai valori attesi; questi estratti sono definiti "purificati".

IDENTIFICAZIONE

Gli estratti sono identificati mediante un metodo appropriato.

SAGGI

Saggi sulla qualità microbiologica (5.1.4), e sulla ricerca dei metalli pesanti, delle aflatossine e dei residui di pesticidi (2.8.13) negli estratti possono essere necessari, quando appropriato, in funzione dell'analisi della droga vegetale o del materiale animale utilizzato per la produzione e del processo di produzione.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Se possibile, la determinazione quantitativa degli estratti deve essere eseguita con un metodo appropriato.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- la droga vegetale o il materiale di origine animale utilizzati,
- se l'estratto è liquido, molle o secco, o se si tratta di tintura,
- per gli estratti titolati, il contenuto dei costituenti con attività terapeutica nota,
- per gli estratti quantificati, il contenuto dei costituenti (markers) usati per la quantificazione,

- il rapporto tra la quantità di materia prima e l'estratto tal quale (estratto senza eccipienti) (DER);
- il solvente o i solventi usati per l'estrazione,
- se del caso, che sono state utilizzate droghe vegetali o materiali di origine animale freschi,
- se del caso, che l'estratto è "purificato",
- il nome e la quantità di ogni eccipiente utilizzato compresi gli stabilizzanti e i conservanti antimicrobici,
- se del caso, la percentuale di residuo secco.

Estratti liquidi - Extracta fluida

DEFINIZIONE

Gli estratti liquidi sono preparazioni liquide nelle quali, in generale, una parte in massa o in volume è equivalente ad una parte in massa della droga vegetale o del materiale di origine animale essiccate. Queste preparazioni vengono aggiustate, se necessario, in modo da soddisfare i requisiti per il contenuto di solvente e, se del caso, dei costituenti.

PRODUZIONE

Gli estratti liquidi sono preparati usando etanolo ad idonea concentrazione o acqua per estrarre la droga vegetale o il materiale di origine animale, o disciogliendo l'estratto molle o secco della droga vegetale o del materiale animale (che è stato prodotto usando la stessa concentrazione del solvente di estrazione come è usato nella preparazione dell'estratto liquido per estrazione diretta) in etanolo ad idonea concentrazione o acqua. Gli estratti liquidi possono essere filtrati se necessario.

A riposo può formarsi un piccolo sedimento che è accettabile purché la composizione del liquido estratto non cambi significativamente.

SAGGI

Densità relativa (2.2.25). Se del caso gli estratti liquidi soddisfano ai limiti prescritti nella monografia.

Contenuto di etanolo (2.9.10). Per gli estratti liquidi alcoolici, effettuare la determinazione del contenuto di etanolo. Il contenuto di etanolo soddisfa al valore prescritto.

Metanolo e 2-propanolo (2.9.11). Salvo diversa indicazione, gli estratti liquidi alcoolici non contengono più dello 0,05 per cento *V/V* di metanolo e non più dello 0,05 per cento *V/V* di 2-propanolo.

Residuo secco (2.8.16). Se del caso, gli estratti liquidi soddisfano ai limiti prescritti nella monografia, corretti se necessario, considerando ogni eccipiente aggiunto.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica oltre ai requisiti riportati precedentemente:

- se del caso, il contenuto di etanolo in per cento *V/V* nell'estratto finale.

Estratti molli - Extracta spissa

DEFINIZIONE

Gli estratti molli sono preparazioni semisolide ottenute per evaporazione o parziale evaporazione del solvente usato per l'estrazione.

SAGGI

Residuo secco (2.8.16). L'estratto molle soddisfa ai limiti prescritti nella monografia.

Solventi. Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, i solventi residui sono controllati come descritto nel capitolo 5.4.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce.

Estratti secchi - Extracta sicca

DEFINIZIONE

Gli estratti secchi sono preparazioni solide ottenute per evaporazione del solvente usato per la loro preparazione. Gli estratti secchi generalmente hanno una perdita all'essiccamento non superiore al 5 per cento *m/m*, a meno che nella monografia sia prescritta una perdita all'essiccamento con un limite diverso o un saggio per l'acqua.

SAGGI

Acqua (2.2.13). Se del caso, l'estratto secco soddisfa ai limiti prescritti nella monografia.

Perdita all'essiccamento (2.8.17). Se del caso, l'estratto secco soddisfa ai limiti prescritti nella monografia.

Solventi. Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, i solventi residui sono controllati come descritto nel capitolo 5.4.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, protetto dalla luce.

Oleoresine - oleoresina

DEFINIZIONE

Le oleoresine sono estratti semi-solidi composti da una resina in soluzione in una essenza e/o olio grasso. Si ottengono per evaporazione del o dei solventi usati per la loro fabbricazione.

Questa monografia si applica alle oleoresine prodotte mediante estrazione e non alle oleoresine naturali.

SAGGI

Acqua (2.2.13). Le oleoresine soddisfano ai limiti prescritti nella monografia.

Solventi. Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, i solventi residui sono controllati come descritto nel capitolo 5.4.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, protetto dalla luce.

Tinture - Tincturae

DEFINIZIONE

Le tinture sono preparazioni liquide ottenute generalmente usando una parte di droga vegetale o di materiale animale e dieci parti di solvente di estrazione o una parte di droga vegetale o materiale di origine animale e cinque parti di solvente di estrazione.

PRODUZIONE

Le tinture sono prodotte per macerazione o per percolazione (la metodologia schematica è riportata di seguito) usando solo etanolo ad appropriata concentrazione per l'estrazione della droga vegetale o del materiale di origine animale, o disciogliendo un estratto molle o secco (che è stato prodotto usando la stessa concentrazione di solvente di estrazione usato nella preparazione della tintura per estrazione diretta) della droga vegetale o del materiale di origine animale in etanolo ad appropriata concentrazione. Le tinture sono filtrate se necessario.

Le tinture sono generalmente limpide. Un piccolo sedimento può formarsi a riposo ed è accettabile purché la composizione della tintura non cambi significativamente.

Produzione per macerazione. Salvo indicazione contraria, ridurre la droga vegetale o il materiale di origine animale da estrarre in pezzi di dimensioni appropriate. Mescolare accuratamente con il prescritto solvente di estrazione e lasciare a riposo, in un recipiente chiuso, per un tempo appropriato. Il residuo viene separato dal solvente di estrazione e, se necessario, pressato. In questo caso i due liquidi vengono riuniti.

Produzione per percolazione. Se necessario, ridurre la droga vegetale o il materiale di origine animale da estrarre in pezzi di dimensioni appropriate. Mescolare accuratamente con una porzione del prescritto solvente di estrazione e lasciare a riposo per un tempo appropriato. Trasferire la miscela in un percolatore e lasciare che il percolato fluisca lentamente a temperatura ambiente assicurandosi che la droga vegetale o il materiale di origine animale siano sempre coperti dal restante solvente di estrazione. Il residuo può essere pressato ed il liquido ottenuto riunito al percolato.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Se del caso, la tintura soddisfa ai limiti prescritti nella monografia.

Contenuto di etanolo (2.9.10). Il contenuto di etanolo soddisfa al valore prescritto.

Metanolo e 2-propanolo (2.9.11). Salvo diversa indicazione, non più dello 0,05 per cento V/V di metanolo e non più dello 0,05 per cento V/V di 2-propanolo.

Residuo secco (2.8.16). Se del caso, le tinture soddisfano ai limiti prescritti nella monografia, corretti se necessario, considerando ogni eccipiente usato.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica oltre ai requisiti riportati precedentemente:

- per tinture diverse dalle tinture titolate e quantificate, il rapporto fra materia prima e liquido di estrazione o fra materia prima e tintura finale;
- se del caso, il contenuto di etanolo in per cento V/V nell'estratto finale.

ESSENZE

Aetherolea

Quanto riportato in questa monografia si applica alle essenze che costituiscono l'oggetto di singole monografie presenti nella Farmacopea Europea. L'autorità competente può decidere di applicare la monografia anche ad altre essenze.

DEFINIZIONE

Prodotti odorosi, generalmente di composizione complessa, ottenuti a partire da materie prime vegetali botanicamente definite, mediante distillazione a vapore, distillazione a secco o un appropriato processo meccanico senza riscaldamento. Le essenze sono usualmente separate dalla fase acquosa con un procedimento fisico che non influisce significativamente sulla loro composizione.

Le essenze possono subire un ulteriore appropriato trattamento; possono, pertanto, essere note commercialmente come deterpenate, desesquiterpenate, rettificcate o prive di "x".

- Una *essenza deterpenata* è una essenza dalla quale sono stati rimossi, parzialmente o totalmente, gli idrocarburi monoterprenici.
- Una *essenza deterpenata e desesquiterpenata* è una essenza dalla quale sono stati rimossi, parzialmente o totalmente, gli idrocarburi mono e sesquiterpenici.
- Una *essenza rettificata* è una essenza che ha subito una distillazione frazionata per eliminare alcuni costituenti o modificarne il contenuto.
- Una *essenza priva di "x"* è una essenza che ha subito una rimozione parziale o totale di uno o più costituenti.

PRODUZIONE

Secondo la monografia, le materie prime vegetali possono essere fresche, appassite, secche, intere, rotte o macinate.

Distillazione a vapore. L'essenza è ottenuta mediante il passaggio di vapore d'acqua attraverso una materia prima vegetale in un appropriato apparecchio. Il vapore d'acqua può essere introdotto da una sorgente esterna o generato da acqua portata all'ebollizione sotto la materia prima o mediante acqua all'ebollizione nella quale viene immersa la materia prima vegetale. Il vapore d'acqua e l'essenza vengono condensati. L'acqua e l'essenza si separano per decantazione.

Distillazione a secco. L'essenza è ottenuta per riscaldamento ad alta temperatura di steli o scorza in un adatto apparecchio senza l'aggiunta di acqua o vapore.

Procedimento meccanico. L'essenza, generalmente nota come "spremuta a freddo", è ottenuta con un procedimento meccanico senza riscaldamento. Si applica, generalmente, a frutti di *Citrus* e comporta la spremitura dell'essenza dal pericarpo e susseguente separazione con un procedimento fisico.

In alcuni casi, all'essenza può essere aggiunto un adatto antiossidante.

CARATTERI

L'aspetto e l'odore di una essenza sono caratteristici.

IDENTIFICAZIONE

Le essenze sono identificate dal loro profilo gas-cromatografico o, in assenza di questo, da ogni altro saggio che può essere richiesto (per esempio un saggio mediante cromatografia su strato sottile).

SAGGI

SAGGI GENERALI

Le essenze soddisfano ai limiti prescritti dai seguenti saggi.

Densità relativa (2.2.5).

Indice di rifrazione (2.2.6).

Potere rotatorio (2.2.7).

Oli grassi ed essenze resinificate (2.8.7).

SAGGI SUPPLEMENTARI

Se necessario le essenze soddisfano ai limiti prescritti dai seguenti saggi.

Punto di solidificazione (2.2.18).

Indice di acidità (2.5.1).

Indice di perossidi (2.5.5).

Esteri estranei (2.8.6).

Residuo alla evaporazione (2.8.9).

Acqua (2.8.5).

Solubilità in alcool (2.8.10).

Falsificazione. Se appropriato, la ricerca di una o più falsificazioni può essere effettuata mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), mediante gas-cromatografia (2.2.28) usando se necessario una colonna chirale, o altro metodo adatto.

Profilo cromatografico. Gas cromatografia (2.2.28): utilizzare il procedimento di normalizzazione.

In aggiunta al saggio di conformità indicato nella monografia specifica, è necessario verificare la conformità del sistema cromatografico con il seguente saggio, che deve essere effettuato periodicamente.

Il cromatogramma riportato nella Figura 2098-1 è a titolo di esempio.

Soluzione di riferimento. Essenza SCR. Se necessario la soluzione di riferimento può essere diluita con *eptano R*.

Colonna:

– *materiale:* silice fusa;

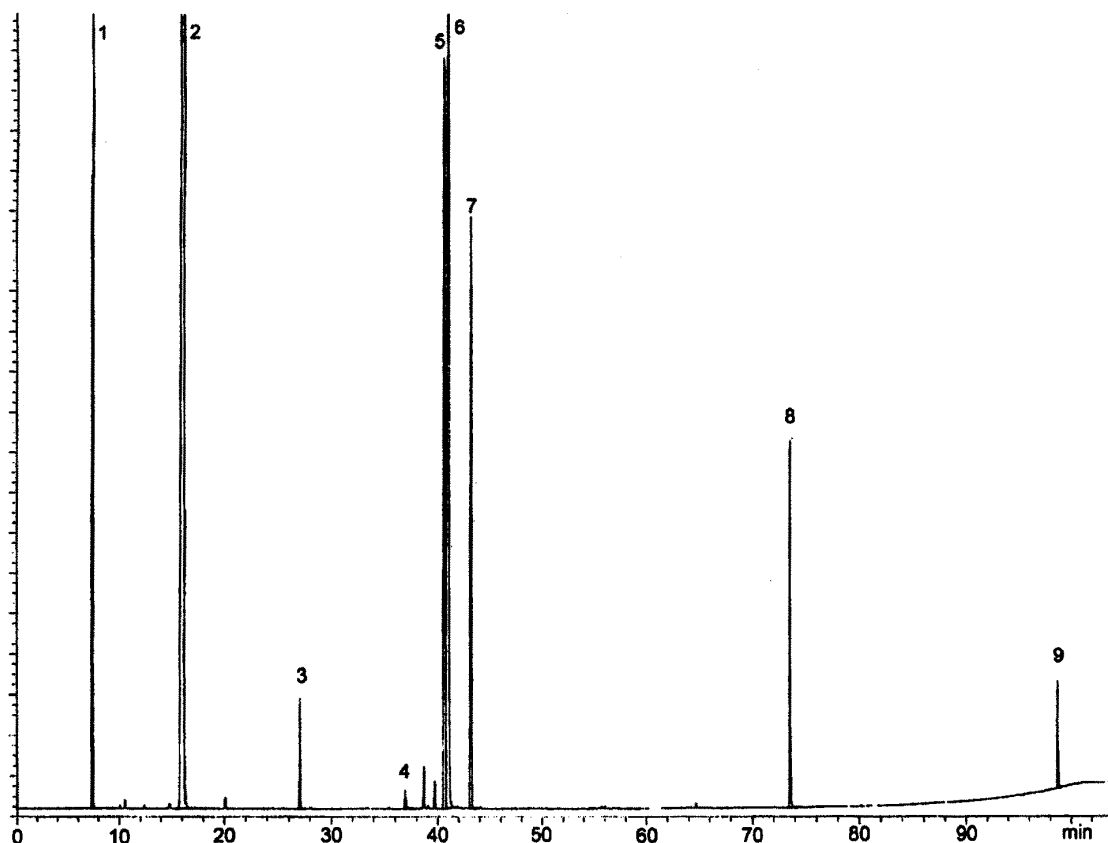
– *dimensioni:* $l = 60$ m, $\phi = 0,25$ mm;

– *fase stazionaria:* *macrogol 20000 R* (0,25 μ m).

Gas di trasporto: *elio per cromatografia R*.

Velocità di flusso: 1,5 ml/min.

Rapporto di divisione: 1:500. Il rapporto di divisione/volume di iniezione può essere aggiustato per adattarlo ad uno specifico apparecchio a condizione che il carico della colonna rimanga lo stesso.



1. α -pinene 3. esanolo 5. linalolo 7. β -cariofillene 9. benzile salicilato
 2. cineolo 4. decanale 6. linalile acetato 8. eugenolo

Figura 2098.-1. – Cromatogramma per il saggio del profilo cromatografico delle essenze.

Temperatura:

	Tempo (min)	Temperatura (°C)
Colonna	0 - 15	70
	15 - 100	70 → 240
	100 - 105	240
Camera di iniezione		250
Rivelatore		270

Rivelazione: ionizzazione di fiamma.

Iniezione: 1 μ l.

Identificazione dei componenti: usare il cromatogramma fornito con l'essenza SCR.

Conformità del sistema: soluzione di riferimento:

– risoluzione: minimo 1,5 tra i picchi dovuti al linalolo e all'acetato di linalile;

– rapporto segnale/rumore: minimo 100 per il picco dovuto al decanale;

– limiti: il contenuto percentuale di ognuno dei 9 componenti è entro i limiti indicati sul foglietto fornito con l'essenza SCR.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben riempito, ermeticamente chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome scientifico della materia prima vegetale utilizzata;
- nei casi appropriati, il tipo e/o il chemotipo dell'essenza;
- dove appropriato, il metodo produzione;
- dove appropriato, il nome e la concentrazione di ogni antiossidante aggiunto;
- dove appropriato, le addizionali fasi del processo che non sono specificate sotto la Definizione.

OLI GRASSI VEGETALI

Olea herbaria

DEFINIZIONE

Gli oli grassi vegetali sono principalmente dei trigliceridi di acidi grassi in fase solida o liquida. Possono contenere piccole quantità di altri lipidi come cere, acidi grassi liberi, gliceridi parziali o sostanze insaponificabili. Gli oli grassi vegetali sono ottenuti dai semi, dal frutto o dal nocciolo/drupa/nucleo di varie piante mediante spremitura e/o estrazione con solventi, poi eventualmente sono raffinati e idrogenati. Se necessario, può essere aggiunto un adatto antiossidante.

Olio vergine: un olio ottenuto dalle materie prime di qualità speciale mediante procedure meccaniche (per esempio mediante spremitura a freddo o centrifugazione).

Olio raffinato: un olio ottenuto mediante spremitura e/o estrazione con solventi e successiva raffinazione con alcali (seguita dalla decolorazione e dalla deodorazione) o raffinazione fisica.

Olio idrogenato: un olio ottenuto mediante spremitura e/o estrazione con solventi e successiva raffinazione con alcali o raffinazione fisica, con eventuale decolorazione, seguita dall'essiccamento, l'idrogenazione e poi ancora decolorazione e deodorazione.

Nella preparazione di forme farmaceutiche per uso parenterale sono usati solo oli raffinati con alcali.

PRODUZIONE

Vengono prese misure atte ad assicurare che l'olio soddisfi ai limiti di benzo[a]pirene stabiliti dalle Autorità competenti. Un limite di 2,0 ppb è fissato dal Regolamento (CE) n. 208/2005.

OLIO GREZZO

Se la pianta ha un alto contenuto di olio, questo è generalmente ottenuto mediante spremitura a caldo seguita da un'estrazione; se la pianta ha un basso contenuto di olio, questo è generalmente ottenuto mediante estrazione diretta.

Procedure meccaniche

A. Spremitura.

Spremitura mediante pressa a vite ad alta pressione. Questa procedura consiste di alcune o di tutte le fasi

seguenti: lavaggio, essiccamento, eliminazione del guscio o decorticamento, macinazione, cottura e riduzione in fiocchi.

Durante il *lavaggio* vengono eliminate le sostanze estranee. L'*essiccamento* può essere necessario se il contenuto di umidità dei semi è più alto di quello desiderabile per il processo successivo. Il *decorticamento* è utile per ottenere una farina con un'alta quantità di proteine mediante la riduzione delle fibre e per ridurre le impurezze presenti nell'olio. La *cottura* serve per diversi scopi: permette di realizzare la completa rottura delle cellule oleose, di abbassare la viscosità dell'olio, la coagulazione delle proteine nella farina, di aggiustare il livello di umidità, di sterilizzare i semi, di detossificare i costituenti indesiderabili dei semi (per es. il gossipol dei semi del cotone) e di fissare alcuni fosfatidi nella tavoletta di materiale compresso per diminuire così le perdite causate dalla raffinazione. L'efficacia del processo di spremitura è tale che nel pannello rimane solo il 3-6 per cento dell'olio.

Spremitura umida mediante una pressa a vite. In questa spremitura vi sono delle gabbie nelle quali sono caricati i grappoli (nel caso dei frutti della palma); queste gabbie sono poi inviate verso uno sterilizzatore orizzontale in presenza di vapore vivo e di riscaldamento. Questa fase permette di inattivare gli enzimi, di separare i frutti dai grappoli, la coagulazione delle proteine ecc..

Dopo riscaldamento in un autoclave, la polpa è inviata sulla pressa a vite. L'olio è separato dall'acqua e dalle impurezze mediante centrifugazione ed essicca sotto vuoto.

Pre-spremitura seguita da estrazione mediante solvente. Le fasi di questo procedimento di spremitura sono le stesse di quelle descritte precedentemente. La funzione principale della pre-spremitura è di ottenere una tavoletta di materiale compresso di eccellente permeabilità, che favorirà la successiva fase di estrazione da parte del solvente. L'estrazione si effettua in un apparecchio a percolazione o ad immersione. L'efficacia del procedimento di estrazione da parte del solvente è tale che l'olio residuo nella farina è generalmente inferiore all'1 per cento.

B. Centrifugazione.

La centrifugazione separa la fase oleosa da quella acquosa che contiene componenti solubili in acqua e particelle solide residue. Questa operazione può essere effettuata usando:

- centrifughe autopulenti a piatto o a vasca;
- super-decantatori, cioè delle turbine orizzontali munite di una cavità cilindrica, che diventa leggermente conica ad una estremità, nella quale ruota continuamente una vite che raschia le pareti della

cavità stessa. La vite e la cavità ruotano con velocità diverse. Le particelle solide sono eliminate attraverso l'estremità affusolata della cavità e l'olio defluisce dall'altra estremità.

Estrazione mediante solvente. Prima dell'estrazione si effettuano le seguenti fasi: i semi sono mantenuti per circa una settimana ad una temperatura inferiore a 24 °C per separare il guscio dai semi e per permettere all'umidità contenuta nei semi di raggiungere l'equilibrio. Poi i semi sono lavati, macinati, decorticati e ridotti in fiocchi. Il solvente generalmente più utilizzato è una miscela costituita principalmente da *n*-esano e metilpentani (p.e. 65-70 °C) chiamata comunemente "esano". A causa dell'elevato rischio di infiammabilità ed esplosività di questa miscela, si possono usare anche gas liquefatti o gas supercritici.

RAFFINAZIONE

La raffinazione ha come obiettivo l'eliminazione delle impurezze e dei contaminanti dell'olio preservando il più possibile i trigliceridi e riducendo al minimo la perdita di olio. È ridotto così il contenuto delle sostanze riportate di seguito:

- acidi grassi liberi che possono deteriorare l'olio per ossidazione, possono causare un sapore di fumo quando l'olio è scaldato e un aroma piccante (mediante raffinazione alcalina),
- acqua che favorisce reazioni di idrolisi enzimatica (mediante raffinazione con alcali, essiccamento),
- gliceridi parziali che possono generare una emulsione ed un sapore amaro (mediante neutralizzazione, lavaggio),
- fosfatidi e composti fosforati che possono avere proprietà emulsionanti, possono favorire la formazione di depositi, un imbrunimento dell'olio con il riscaldamento, un aspetto torbido ed una cattiva stabilità organolettica (mediante raffinazione con alcali),
- coloranti come la clorofilla (mediante raffinazione con alcali), carotenoidi (mediante decolorazione),
- glicolipidi che possono formare soluzioni colloidali con l'acqua,
- idrocarburi liberi, paraffina, cere e materiali resinosi,
- metalli (Fe, Cu, Pb, Sn, Pt, Pd ecc.) che sono potenti catalizzatori di ossidazione,
- pigmenti come il gossipol (nell'olio ottenuto con semi di cotone) o micotossine come le aflatoxine (principalmente nei semi di arachidi),
- pesticidi,
- prodotti di ossidazione (aldeidi, perossidi),

- proteine che provocano possibili reazioni allergiche,
- sostanze insaponificabili (steroli, tocoferoli ed altre vitamine),
- idrocarburi policiclici aromatici.

Raffinazione mediante alcali. Questo procedimento comprende le fasi seguenti: sgommatura se necessaria, neutralizzazione mediante basi, lavaggio ed essiccamento.

Sgommatura. Nel corso di questa fase della raffinazione, per es. trattamento con acqua e/o acido fosforico e/o sodio cloruro, sono eliminati i fosfatidi, i composti fosforati e i metalli. L'uso di questa fase dipende dalla natura dell'olio.

Neutralizzazione con alcali. Questa fase riduce il contenuto di acidi grassi liberi al di sotto dello 0,1 per cento; gli acidi grassi sono trasformati in saponi insolubili nell'olio chiamati anche "saponi grezzi". Altre sostanze possono essere eliminate mediante adsorbimento su questi saponi: mucillagini, fosfatidi, prodotti di ossidazione, sostanze coloranti ecc. Sono eliminate tutte le sostanze che diventano insolubili in olio dopo l'idratazione. La neutralizzazione con alcali presenta l'inconveniente, se l'operazione non è effettuata in maniera corretta, di saponificare una parte dell'olio neutro.

Lavaggio. Questa operazione consiste nella eliminazione mediante l'acqua calda, dell'eccesso di sapone e di alcali e anche di residui dei metalli, dei fosfatidi e di altre impurezze.

Essiccamento. L'acqua residua è eliminata sotto vuoto prima delle altre fasi quali per es. la decolorazione.

Raffinazione fisica. Questa procedura consiste in un trattamento al vapore dell'olio in condizioni di vuoto elevato e ad una temperatura superiore a 235 °C. Questa tecnica deve essere utilizzata per oli con un contenuto naturale basso di fosfatidi e di metalli (olio di palma, olio di cocco, olio di oliva) o dai quali sono stati eliminati i fosfatidi e i metalli pesanti mediante trattamento con acidi, usando acido fosforico concentrato e successivo trattamento mediante adsorbimento con terre decoloranti attivate (olio di girasole, olio di colza, olio di semi di soia). Questo procedimento non può essere utilizzato per gli oli sensibili al calore (olio di semi di cotone) poiché anneriscono.

Decolorazione. Il metodo di colorazione usuale consiste in un adsorbimento dell'olio, che è generalmente scaldato a 30 °C per 30 min e sotto vuoto, su terre decoloranti (naturali o attivate) o su carbone (attivato o non attivato). Possono essere aggiunti anche degli adsorbenti di silice sintetica. Con questo metodo vengono eli-

minate sostanze che non sono state completamente rimosse durante la raffinazione come per es. i carotenoidi e la clorofilla.

Deodorazione. La deodorazione permette di eliminare gli odori, le sostanze volatili e i solventi di estrazione residui; questo procedimento consiste nell'iniettare vapore secco nell'olio mantenuto sotto vuoto e a temperatura elevata. Le temperature variano in funzione dell'olio: da 200 °C a 235 °C per un periodo da 1 h e 30 min fino a 3 h oppure una temperatura superiore a 240 °C per 30 min.

Una delle principali reazioni secondarie di questa fase è la decolorazione termica dovuta alla distruzione dei carotenoidi quando la temperatura è superiore a 150 °C. Questa tecnica provoca una perdita di sostanze che possono essere distillate (acidi grassi liberi, steroli, tocoferoli, parte dell'olio raffinato) e può causare una isomerizzazione *cis-trans* dei doppi legami degli acidi grassi insaturi.

DEPARAFFINAZIONE

Questa fase consiste nell'eliminazione dei solidi e delle cere mediante filtrazione a bassa temperatura. Queste sostanze solide e le cere possono modificare l'aspetto dell'olio e causare depositi.

IDROGENAZIONE

L'idrogenazione dell'olio essiccato e/o decolorato si effettua per mezzo di un catalizzatore (per es. Ni, Pt, Pd) ad una temperatura tra 100 °C e 200 °C circa, sotto pressione d'idrogeno. Il catalizzatore è eliminato successivamente mediante filtrazione a 90 °C. L'idrogeno deve essere puro: esente da contaminanti dei catalizzatori, esente da acqua, a basso contenuto di anidride carbonica, di metano e di azoto. Si possono ottenere delle piccole quantità di polimeri. Durante l'idrogenazione parziale si formano acidi grassi *trans*.

PURIFICAZIONE CROMATOGRAFICA

In caso di applicazioni che richiedono un grado di purezza elevato, come in particolare l'uso parenterale, l'olio può essere purificato mediante un passaggio attraverso una colonna contenente una terra attivata. In alcuni casi può essere usato un solvente per aumentare l'efficienza di questa operazione. Le molecole con un'alta polarità come le sostanze ossidate, gli acidi, gli alcoli, i gliceridi parziali e gli steroli liberi sono prevalentemente eliminati.

Quando l'olio è usato per la preparazione di una forma farmaceutica per uso parenterale, i limiti riportati nella monografia per l'indice di acidità, l'indice di perossidi e il contenuto di acqua possono essere differenti.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- se del caso, che l'olio è ottenuto mediante spremitura o estrazione,
- se del caso, che l'olio è appropriato per la preparazione di forme farmaceutiche per uso parenterale,
- il nome e la concentrazione di ogni antiossidante aggiunto.

1435

PIANTE PER TISANE

Plantae ad ptisanam

DEFINIZIONE

Le piante per tisane sono costituite esclusivamente da una o più droghe vegetali destinate a preparazioni acquose orali ottenute per decozione, infusione o macerazione. La preparazione viene effettuata immediatamente prima dell'uso.

Le piante per tisane vengono generalmente fornite in quantità non ripartite in dosi od in sacchetti.

Le droghe vegetali utilizzate soddisfano alle singole monografie di Farmacopea o, in mancanza di queste, alla monografia generale *Droghe vegetali (1433)*.

Le raccomandazioni sulla qualità microbiologica delle piante per tisane (5.1.4. - *Categoria 4*) tengono conto del metodo di preparazione prescritto (uso di acqua bollente o non bollente).

IDENTIFICAZIONE

L'identità delle droghe vegetali presenti nelle piante per tisane è effettuata mediante esami botanici.

SAGGI

La proporzione fra droghe vegetali presenti nelle piante per tisane viene verificata con metodi appropriati.

Le piante per tisane in sacchetti soddisfano al saggio seguente:

Uniformità di massa. Determinare la massa media di venti unità scelte a caso come segue: pesare un singolo sacchetto pieno di droghe per tisana, aprirlo senza perdere alcun frammento. Svuotarlo completamente utilizzando uno spazzolino. Pesare il sacchetto vuoto e calcolare la massa del contenuto per sottrazione. Ripetere l'operazione con i diciannove sacchetti rimasti. Salvo giustificate eccezioni, la massa singola di non più di due su venti unità può deviare dalla massa media del contenuto di una percentuale più elevata di quella indicata nella tabella sotto riportata e la massa del contenuto di nessuna unità può deviare di più del doppio di questa percentuale.

Massa media	Deviazione percentuale
meno di 1,5 g	15 per cento
da 1,5 g a 2,0 g inclusi	10 per cento
più di 2,0 g	7,5 per cento

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce.

1434

PREPARAZIONI A BASE DI DROGHE VEGETALI

Plantae medicinales praeparatae

DEFINIZIONE

Le preparazioni a base di droghe vegetali si ottengono sottoponendo le droghe vegetali a trattamenti quali estrazione, distillazione, spremitura, frazionamento, purificazione, concentrazione, fermentazione. Esse comprendono: droghe vegetali triturate o polverizzate, tinture, estratti, essenze, succhi spremuti ed essudati trattati.

Le piante per tisane soddisfano alla monografia *Piante per tisane (1435)*.

Le preparazioni istantanee per tisane sono costituite da polvere o granulati di una o più preparazione(i) a base di droghe vegetali destinate alla preparazione, immediatamente prima dell'uso, di una soluzione per uso orale.

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Radiopharmaceutica

DEFINIZIONI

Per gli obiettivi di questa monografia generale, le preparazioni radiofarmaceutiche comprendono:

- prodotti radiofarmaceutici: ogni prodotto medicinale che, quando è pronto per l'uso, contiene uno o più radionuclidi (isotopi radioattivi) incorporati a scopo medico,
- generatore di radionuclidi: ogni sistema che incorpora un definito radionuclide progenitore dal quale è prodotto un radionuclide discendente che deve essere rimosso mediante eluizione o mediante un altro metodo e usato in una preparazione radiofarmaceutica,
- kit per la preparazione radiofarmaceutica: ogni preparazione che deve essere ricostituita e/o combinata con dei radionuclidi nella preparazione radiofarmaceutica finale, generalmente prima del suo uso,
- precursore radiofarmaceutico: ogni altro radionuclide prodotto, prima dell'uso, mediante la marcatura di un'altra sostanza.

Un nuclide è una specie atomica caratterizzata dal numero di protoni e neutroni contenuti nel suo nucleo (e di conseguenza dal suo numero atomico Z e dal suo numero di massa A) e anche dallo stato energetico del suo nucleo. Gli isotopi di un elemento sono nuclidi aventi il medesimo numero atomico ma differente numero di massa. I nuclidi contenenti un insieme instabile di protoni e neutroni si trasformano spontaneamente, con una probabilità statistica costante, in altre combinazioni, stabili o instabili, di protoni e neutroni. Tali nuclidi sono detti essere radioattivi e sono chiamati radionuclidi. Il nuclide instabile iniziale viene chiamato radionuclide progenitore e il nuclide risultante è il nuclide discendente.

Il decadimento radioattivo o la trasformazione può comportare l'emissione di particelle cariche, una cattura di elettroni (CE) ovvero una transizione isomerica (TI). Le particelle cariche emesse dal nucleo possono essere particelle alfa (nucleo dell'atomo di elio avente numero di massa 4), oppure beta (elettroni con carica negativa o positiva, questi ultimi chiamati positroni).

L'emissione da parte del nucleo di particelle cariche può essere accompagnata da raggi gamma. Raggi gamma sono emessi anche nel corso di una transizione isomerica. Queste emissioni di raggi gamma possono essere parzialmente sostituite dalla espulsione di elettroni conosciuti come elettroni di conversione interna. Questo fenomeno, similmente al processo di cattura degli elettroni, provoca una emissione secondaria di raggi X (causata dal riordinamento degli elettroni nell'atomo). Questa emissione secondaria può essa stessa essere parzialmente sostituita dalla espulsione di elettroni conosciuti come elettroni Auger. I radionuclidi aventi un deficit di neutroni possono decadere emettendo dei positroni: essi sono chiamati emettitori di positroni. I positroni si annichiliscono al contatto con gli elettroni e questo processo dà luogo ad un'emissione di due fotoni gamma, ciascuno con un'energia di 511 keV ed emessi generalmente a 180° l'uno dall'altro, definita radiazione d'annichilazione.

Il decadimento di un radionuclide è governato da leggi di probabilità con un decadimento caratteristico costante e segue una legge esponenziale. Il tempo durante il quale una determinata quantità di un radionuclide decresce fino alla metà del suo valore iniziale viene chiamato periodo di dimezzamento ($T_{1/2}$).

Il potere penetrante di ciascuna radiazione varia considerevolmente a seconda della sua natura e della sua energia. Le particelle alfa vengono totalmente assorbite in uno spessore di materia compreso tra qualche micrometro e qualche decina di micrometri. Le particelle beta vengono assorbite totalmente da uno spessore di materia variabile da alcuni millimetri a qualche centimetro. I raggi gamma non sono assorbiti completamente ma solo attenuati e una diminuzione della loro intensità di dieci volte può richiedere, ad esempio, uno spessore di qualche centimetro di piombo. Più elevata è la densità della sostanza che viene attraversata dalle particelle alfa e beta, più il percorso di queste radiazioni è breve e l'attenuazione dell'intensità dei raggi gamma è maggiore.

Ogni radionuclide è caratterizzato da un periodo di dimezzamento invariabile, espresso in unità di tempo, e dalla natura e dall'energia della sua o delle sue radiazioni. L'energia è espressa in elettronvolt (eV), kiloelettronvolt (keV) o in megaelettronvolt (MeV).

Generalmente il termine "radioattività" è usato per descrivere il fenomeno del decadimento radioattivo e per esprimere la quantità fisica (attività) di questo fenomeno. La radioattività di una preparazione è il numero di disintegrazioni nucleari o trasformazioni nucleari per unità di tempo.

Nel Sistema Internazionale (SI), le quantità di radioattività sono espresse in becquerel (Bq) che corrisponde

ad una trasformazione nucleare per secondo. La misura assoluta della radioattività richiede un laboratorio specializzato ma l'identificazione e la misura della radiazione possono essere effettuate per confronto utilizzando preparazioni di riferimento fornite da laboratori riconosciuti dall'Autorità competente.

Purezza radionuclidica. E' il rapporto, espresso in percentuale, tra la radioattività del radionuclide considerato e la radioattività totale della preparazione radiofarmaceutica. Le impurezze radionuclidiche principali sono elencate, con i limiti corrispondenti, nelle singole monografie.

Purezza radiochimica. E' il rapporto, espresso in percentuale, tra la radioattività del radionuclide considerato che è presente nella preparazione radiofarmaceutica sotto la forma chimica dichiarata e la radioattività totale del medesimo radionuclide presente nella preparazione radiofarmaceutica. Le impurezze radiochimiche principali sono elencate, con i limiti corrispondenti, nelle singole monografie.

Purezza chimica. Nelle monografie delle preparazioni radiofarmaceutiche la purezza chimica è controllata specificando i limiti delle impurezze chimiche.

Supporto (carrier) isotopico. Un isotopo stabile dell'elemento considerato, presente nella preparazione radioattiva o aggiunto ad essa, nella stessa forma chimica nella quale si trova il radionuclide.

Radioattività specifica. La radioattività di un radionuclide per unità di massa dell'elemento o della forma chimica considerata.

Concentrazione radioattiva. La radioattività di un radionuclide per unità di volume.

Radioattività totale. La radioattività di un radionuclide espressa per unità (flacone, capsula, ampolla, generatore, ecc.).

Materie prime. Tutti i costituenti utilizzati per la produzione delle preparazioni radiofarmaceutiche.

Periodo di validità. Il tempo durante il quale devono essere soddisfatte le specifiche descritte nella monografia. Deve essere indicata chiaramente la data di scadenza e, se necessario, l'ora.

PRODUZIONE

Una monografia di una preparazione radiofarmaceutica descrive il più precisamente possibile il metodo della produzione del radionuclide. Una preparazione radiofarmaceutica contiene il suo radionuclide:

- come un elemento in forma atomica o molecolare, per esempio $[^{133}\text{Xe}]$, $[^{15}\text{O}]\text{O}_2$,
- come uno ione, per esempio $[^{131}\text{I}]\text{iioduro}$, $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{pertechnetato}$,

- incluso o legato a molecole organiche mediante chelazione, per esempio [^{111}In]ossina, o mediante legame covalente, per esempio 2- ^{18}F fluoro-2-desossi-D-glucosio.

Esistono in pratica differenti procedimenti che permettono di produrre dei radionuclidi da usare nelle preparazioni radiofarmaceutiche o come preparazioni radiofarmaceutiche:

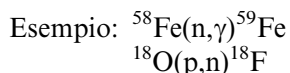
- bombardamento neutronico dei materiali bersaglio (generalmente in reattori nucleari),
- bombardamento dei materiali bersaglio con particelle cariche (in acceleratori come i ciclotroni),
- fissione nucleare di nuclidi pesanti di materiali bersaglio (generalmente dopo bombardamento con neutroni o particelle cariche),
- un generatore radionuclidico.

Bombardamento con neutroni o particelle cariche

La reazione nucleare e la sua probabilità di verificarsi nell'unità di tempo dipendono dalla natura e dalle proprietà fisiche del materiale bersaglio e dalla natura, dall'energia e dalla quantità delle particelle incidenti.

La trasformazione nucleare che si verifica attraverso il bombardamento con particelle può essere rappresentata nella seguente forma:

nucleo bersaglio (particella incidente, particella o radiazione emessa) nucleo prodotto.



Oltre alla reazione nucleare desiderata potrebbero verificarsi delle trasformazioni "parassite". Queste sono influenzate dall'energia delle particelle incidenti e dalla purezza del materiale bersaglio. Alcune trasformazioni "parassite" possono provocare un aumento delle impurezze radionuclidiche.

Fissione nucleare

Un piccolo numero di nuclidi ad alto numero atomico può essere ottenuto mediante fissione e la reazione più frequentemente usata è la fissione dell'uranio-235 mediante neutroni in un reattore nucleare. Lo iodio-131, il molibdeno-99 e lo xenon-133 possono essere prodotti mediante fissione nucleare dell'uranio-235. La loro estrazione da una miscela di oltre 200 radionuclidi deve essere attentamente controllata per ridurre al minimo le impurezze radionuclidiche.

Generatori di radionuclidi

I sistemi generatori di radionuclide utilizzano un radionuclide progenitore ad emivita relativamente lunga che decade ad un radionuclide discendente, generalmente con un periodo di dimezzamento più breve.

Il radionuclide discendente è separato poi dal radionuclide progenitore mediante un processo chimico o fisico; ciò permette di utilizzare il discendente ad una distanza considerevole dal sito di produzione dei generatori malgrado il breve tempo di dimezzamento.

Materiali bersaglio

La composizione isotopica e la purezza del materiale bersaglio determinano le percentuali relative del radionuclide principale e delle impurezze radionuclidiche. L'uso di materiali bersaglio arricchiti isotopicamente, nei quali l'abbondanza del nuclide bersaglio richiesto è stata aumentata artificialmente, può migliorare la resa della produzione e la purezza del radionuclide desiderato.

La forma chimica, la purezza e lo stato fisico, gli additivi chimici così come le condizioni di bombardamento e l'ambiente fisico e chimico diretto determinano lo stato chimico e la purezza chimica dei radionuclidi prodotti.

Nel corso della produzione di radionuclidi, e in particolare dei radionuclidi a vita breve, può non essere possibile determinare questi parametri di qualità prima dei processamenti successivi e della produzione delle preparazioni radiofarmaceutiche. Conseguentemente ogni lotto di materiale bersaglio deve essere esaminato mediante l'esecuzione di una prova di produzione prima di essere utilizzato abitualmente nella produzione del radionuclide considerato e nella fabbricazione delle preparazioni radiofarmaceutiche. In questo modo si assicura che in condizioni specifiche, il bersaglio produce il radionuclide nella quantità desiderata e della qualità specificata.

Il materiale bersaglio allo stato gassoso, liquido o solido è contenuto in un supporto in modo da essere irradiato mediante il fascio di particelle. In caso di bombardamento neutronico, il materiale bersaglio è comunemente contenuto in ampolle di quarzo o in contenitori di alluminio o di titanio ad alta purezza. È necessario assicurare che non ci siano interazioni tra il recipiente e il suo contenuto nelle condizioni di irradiazione (temperatura, pressione, tempi).

Nel caso di bombardamento con particelle cariche, il supporto per il materiale bersaglio è generalmente costruito in alluminio o in un altro metallo appropriato, con connessioni di entrata ed uscita, un sistema di raffreddamento e generalmente una finestra di ingresso del fascio costituita da lamina sottile di metallo. La natura e lo spessore della finestra hanno un'influenza determinante sulla reazione nucleare e possono anche influenzare la purezza radionuclidica.

La procedura di produzione descrive chiaramente:

- il materiale bersaglio,
- la costruzione del supporto per il materiale bersaglio,

- il caricamento del materiale bersaglio nel sistema di irradiazione,
- il metodo di irradiazione (di bombardamento),
- la separazione del radionuclide desiderato,

e considera tutti i possibili effetti sull'efficacia della produzione in termini di qualità e quantità del radionuclide prodotto.

Lo stato chimico del radionuclide isolato può giocare un ruolo fondamentale nel processamento successivo.

Precursori per le sintesi

Generalmente, questi precursori non sono prodotti su larga scala. Alcuni precursori sono sintetizzati dai laboratori di produzione radiofarmaceutica, altri sono forniti da produttori o da laboratori specializzati.

I saggi per l'identità, per la purezza chimica e per la determinazione quantitativa devono essere compiuti mediante procedure convalidate.

Se i lotti dei precursori sono accettati sulla base di dati ottenuti da certificati di analisi, si devono definire le prove atte a dimostrare la riproducibilità e la consistenza delle analisi effettuate dai fornitori e deve essere effettuato almeno un saggio di identità. Si raccomanda di esaminare i materiali precursori in saggi preliminari di produzione prima del loro utilizzo abituale per la fabbricazione delle preparazioni radiofarmaceutiche, in modo da assicurare che, nelle specifiche condizioni di produzione, il precursore permetta di ottenere la preparazione radiofarmaceutica nella quantità desiderata e della qualità specificata.

Efficienza del sistema di produzione

Tutte le operazioni, dalla preparazione del bersaglio alla distribuzione per l'utilizzo della preparazione radiofarmaceutica finale, devono essere chiaramente documentate includendo il loro impatto sulla purezza del prodotto finale e l'efficacia della procedura. Dove possibile, si devono eseguire controlli durante la produzione e registrare i risultati a ciascuno stadio della produzione al fine di identificare a quale livello si sia verificata una eventuale discrepanza rispetto al normale processo di produzione.

- La produzione delle preparazioni radiofarmaceutiche può fare uso di apparati meccanici e automatizzati usati nell'industria farmaceutica, purché gli stessi siano adattati alla specificità della materia prima radioattiva e ai criteri della radioprotezione.
- Per le preparazioni radiofarmaceutiche contenenti radionuclidi con emivita breve, come alcuni emettitori di positroni, si usa generalmente il controllo a distanza del processo di produzione o apparecchiature di radiosintesi automatizzate. Per i radionuclidi con un periodo di dimezzamento brevissimo

(meno di 20 min) il controllo dell'efficienza del sistema di produzione è un importante accorgimento per assicurare la qualità della preparazione radiofarmaceutica prima del suo rilascio.

- Ogni procedura di produzione deve essere convalidata mediante produzioni di controllo prima del suo uso a regime nella fabbricazione delle preparazioni radiofarmaceutiche, per assicurare che, nelle specifiche condizioni di produzione, il sistema di produzione consenta di ottenere una preparazione radiofarmaceutica nella quantità desiderata e della qualità specificata.
- La preparazione della dose da somministrare della preparazione radiofarmaceutica finale da impiegare nella pratica di medicina nucleare comporta generalmente l'utilizzo di una frazione della radioattività totale ottenuta da preparazioni radiofarmaceutiche pronte per l'uso, generatori, kit e precursori radioattivi. Tutte le condizioni che possono influenzare la qualità del prodotto (per esempio la purezza radiochimica e la sterilità) devono essere chiaramente definite e devono essere adottate misure adatte per la protezione dalle radiazioni.

IDENTIFICAZIONE

Decadimento radioattivo. La radioattività decade in modo esponenziale, con una costante di disintegrazione caratteristica per ciascun radionuclide.

La curva di decadimento esponenziale (curva di decadimento) è descritta mediante l'equazione:

$$A_t = A_0 e^{-\lambda t}$$

A_t = radioattività al tempo t ,

A_0 = radioattività al tempo $t = 0$,

λ = costante di disintegrazione caratteristica di ogni radionuclide,

e = base dei logaritmi Neperiani.

Il periodo di dimezzamento ($T_{1/2}$) è correlato alla costante di disintegrazione (λ) dalla seguente relazione:

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} \quad (\ln 2 \approx 0,693)$$

Il radionuclide è generalmente identificato mediante il suo periodo di dimezzamento o mediante la natura e l'energia della sua radiazione o mediante entrambi, come prescritto nella monografia.

Misura del periodo di dimezzamento. Il periodo di dimezzamento è misurato con un opportuno strumento di rivelazione come la camera di ionizzazione, un contatore Geiger-Müller, un contatore a scintillazione (cristallo, solido, liquido) o un rivelatore semiconduttore. La preparazione da esaminare è usata come tale

o diluita o essiccata in una capsula dopo un'opportuna diluizione. La quantità di attività, scelta in relazione alle condizioni sperimentali, deve essere sufficientemente elevata per permettere di protrarre la misura per alcuni dei periodi di dimezzamento presunti, ma non deve essere troppo elevata per evitare una perdita dell'efficienza di conteggio, per esempio a causa della saturazione del rivelatore o del tempo morto di risposta.

La sorgente radioattiva è preparata in modo tale da evitare perdite di sostanza durante la manipolazione. Se è liquida (soluzione), essa è contenuta in flaconi o contenitori sigillati. Se è solida (residuo da essiccazione in una capsula), essa è ricoperta con una protezione costituita da un foglio adesivo di acetato di cellulosa o altro materiale opportuno.

La stessa sorgente viene misurata più volte nelle stesse condizioni di geometria ad intervalli corrispondenti generalmente alla metà di un periodo di dimezzamento e durante un tempo corrispondente a circa tre emivite. Il corretto funzionamento dell'apparecchio deve essere verificato utilizzando una sorgente a lunga emivita e, se necessario, effettuate delle correzioni per tenere conto delle variazioni di velocità di conteggio (vedi Misura della radioattività).

Viene costruito un grafico riportando in ascissa il tempo e in ordinata il logaritmo del valore letto dallo strumento (per esempio velocità di conteggio). Il periodo di dimezzamento calcolato, se non diversamente indicato, non deve differire più del 5 per cento rispetto al periodo di dimezzamento indicato in Farmacopea.

Determinazione della natura e dell'energia delle radiazioni. La natura e l'energia delle radiazioni emesse possono essere determinate con diversi procedimenti, quali la costruzione di una curva di attenuazione e l'uso della spettrometria. La curva di attenuazione può essere utilizzata per l'analisi delle emissioni di elettroni; la spettrometria viene utilizzata soprattutto per l'identificazione delle radiazioni gamma e dei raggi X rilevabili.

La curva di attenuazione è utilizzata per gli emettitori di soli elettroni quando non è disponibile uno spettrometro per raggi beta, oppure, per emettitori beta/gamma quando non è possibile disporre di uno spettrometro per raggi gamma. Questo metodo di stima dell'energia massima della radiazione beta fornisce solo un valore approssimativo. La sorgente, convenientemente sistemata in modo da ottenere condizioni di geometria costanti, è posta di fronte alla sottile finestra di un contatore Geiger-Müller o di un contatore proporzionale. La sorgente è protetta come descritto sopra. Si misura quindi la velocità di conteggio della sorgente. Tra la sorgente e il contatore sono posti, in successione,

almeno sei schermi di alluminio con massa per unità di area crescente, scelti entro limiti tali che, con un emettitore beta puro, la velocità di conteggio non è influenzata dall'aggiunta di ulteriori schermi. Questi schermi sono inseriti in modo tale da mantenere costanti le condizioni geometriche. Si costruisce un grafico riportando in ascissa la massa per unità di area dello schermo espressa in milligrammi per centimetro quadrato e in ordinata il logaritmo del numero di impulsi contati per unità di tempo per ciascuno schermo esaminato. Si costruisce un grafico nelle stesse condizioni per una preparazione standardizzata. I coefficienti di assorbimento di massa sono calcolati con riferimento alle parti mediane delle curve che risultano praticamente rettilinee.

Il coefficiente di assorbimento di massa μ_m , espresso in centimetri quadrati per milligrammo, dipende dall'energia dello spettro energetico della radiazione beta, dalla natura e dalle proprietà fisiche dello schermo. Esso permette così di identificare gli emettitori beta ed è calcolato usando l'equazione:

$$\mu_m = \frac{\ln A_1 - \ln A_2}{m_2 - m_1}$$

m_1 = massa per unità di area dello schermo più leggero,

m_2 = massa per unità di area dello schermo più pesante, m_1 e m_2 sono compresi nella parte rettilinea della curva,

A_1 = velocità di conteggio per la massa per unità di area m_1 ,

A_2 = velocità di conteggio per la massa per unità di area m_2 .

Il coefficiente di assorbimento di massa μ_m così calcolato non deve differire per più del 10 per cento dal coefficiente ottenuto in identiche condizioni utilizzando una preparazione di riferimento dello stesso radio-nuclide.

Il percorso della particella beta è un ulteriore parametro che può essere usato per la determinazione dell'energia beta. Esso si ottiene dal grafico descritto sopra e rappresenta la massa per unità di area corrispondente all'intersezione delle estrapolazioni della parte rettilinea discendente della curva di assorbimento e della linea orizzontale della radioattività di fondo.

I contatori a scintillazione liquida possono essere usati per ottenere uno spettro delle radiazioni di emettitori α e β^- (vedere il paragrafo Misura della radioattività).

La spettrometria gamma è usata per identificare i radio-nuclidi mediante la misura dell'energia e dell'intensità delle loro emissioni gamma e X.

Il rivelatore più indicato per la spettrometria dei raggi gamma e dei raggi X è il rivelatore semiconduttore al

germanio. Sono anche usati rivelatori a scintillazione a ioduro di sodio attivato con tallio ma hanno una risoluzione energetica molto minore.

Il sistema di rivelazione deve essere calibrato usando sorgenti di riferimento poiché l'efficienza di rivelazione è funzione sia dell'energia dei raggi gamma e dei raggi X, sia della forma della sorgente e della distanza della sorgente dal rivelatore. L'efficienza di rivelazione può essere misurata impiegando una sorgente calibrata del radionuclide che deve essere misurato o, per un lavoro più generale, può essere costruito un grafico dell'efficienza in funzione dell'energia dei raggi gamma e dei raggi X mediante una serie di sorgenti calibrate di vari radionuclidi.

Lo spettro di emissione di un radionuclide che emette raggi gamma e raggi X è unico per quel nuclide ed è caratterizzato dalle energie e dal numero dei fotoni di energie prodotte nella transizione da un livello di energia ben determinato ad un altro. Questa proprietà contribuisce all'identificazione dei radionuclidi presenti in una sorgente e alla determinazione quantitativa di ciascuno. Questo permette di valutare il grado di impurezza radionuclidica mediante la rivelazione di picchi estranei a quelli previsti.

È possibile definire la curva di decadimento della radioattività usando la spettrometria gamma, poiché i picchi così ottenuti diminuiscono di ampiezza in funzione del periodo di dimezzamento. Se in una sorgente è presente un'impurezza radioattiva con un differente periodo di dimezzamento, è facile rilevare quest'ultima mediante l'identificazione del picco o dei picchi caratteristici la cui ampiezza decresce con un periodo differente da quello atteso per il radionuclide in esame. L'accertamento del periodo di dimezzamento corrispondente ai picchi aggiunti mediante misure ripetute del campione contribuisce all'identificazione dell'impurezza.

La *Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea (5.7)* riassume le caratteristiche fisiche generalmente riconosciute di quei radionuclidi che fanno parte dei preparati che sono oggetto di monografie della Farmacopea. Inoltre, la Tabella specifica le caratteristiche fisiche delle principali impurezze potenziali dei radionuclidi menzionati nelle monografie.

Per “probabilità di una transizione” si intende la probabilità che un nucleo, in uno stato di energia, si trasformi secondo la transizione considerata. I termini “intensità” e “abbondanza” sono frequentemente usati al posto di “probabilità”.

Per “probabilità di emissione” si intende la probabilità che un atomo di un radionuclide dia origine all'emissione delle particelle o della radiazione considerate.

Indipendentemente dal significato, la probabilità è normalmente riferita a 100 disintegrazioni.

MISURA DELLA RADIOATTIVITÀ

La radioattività di una preparazione è riferita ad una data e, se necessario, ad una ora (minuto o secondo) determinata.

La misura assoluta della radioattività di un determinato campione può essere effettuata solo se è conosciuto lo schema del decadimento del radionuclide, ma in pratica sono necessarie molte correzioni per ottenere risultati accurati. Per questa ragione è comune effettuare le misure con l'ausilio di una sorgente di riferimento primaria. Gli standard primari possono non essere disponibili per i radionuclidi a vita breve, per esempio emettitori di positroni. Gli strumenti di misurazione sono calibrati usando standard adatti per gli specifici radionuclidi. Gli standard sono disponibili presso i laboratori riconosciuti dall'Autorità competente. Il contatore Geiger-Müller è soprattutto utilizzato per rivelare gli emettitori beta e beta/gamma; il contatore a scintillazione o quello a semiconduttore sono utilizzati per la misura delle radiazioni gamma; emettitori beta a bassa energia richiedono un contatore a scintillazione liquida. Per il rilevamento e la misura di emettitori alfa sono richiesti apparecchi e tecniche specializzate. È essenziale per effettuare un confronto esatto tra le sorgenti radioattive operare in condizioni analoghe di misurazione per i campioni e per gli standard.

Gli emettitori beta a bassa energia possono essere misurati con un contatore a scintillazione liquida. Il campione è sciolto in una soluzione contenente uno o più spesso due sostanze organiche fluorescenti (scintillatori primario e secondario) che convertono parte dell'energia di disintegrazione in fotoni di luce che sono rivelati mediante un fotomoltiplicatore e convertiti in impulsi elettrici. Quando si usa un contatore a scintillazione liquida, le misure comparative devono essere corrette dagli effetti di smorzamento della luce. Le misure dirette devono essere effettuate, se possibile, in condizioni simili (per esempio volumi e tipo delle soluzioni) per la sorgente da misurare e per la sorgente di riferimento.

Tutte le misure di radioattività devono essere corrette sottraendo il fondo dovuto alla radioattività dell'ambiente e ai segnali spuri generati nell'apparecchio.

Con determinati apparecchi, quando le misure vengono effettuate con livelli di radioattività elevata, può essere necessario apportare anche la correzione per le perdite da coincidenza dovute al tempo morto del rivelatore e

del relativo sistema elettronico. Per un sistema di conteggio con un determinato tempo morto τ dopo ciascun impulso, la correzione è:

$$N = \frac{N_{\text{obs}}}{1 - N_{\text{obs}}\tau}$$

N = il valore vero dei conteggi al secondo,

N_{obs} = il valore osservato dei conteggi al secondo,

τ = il tempo morto in secondi.

In alcuni apparecchi questa correzione viene eseguita automaticamente. Le correzioni per perdite da coincidenza devono essere fatte prima della correzione per la radiazione di fondo.

Se il tempo di una misura singola, t_m , non è così breve da essere trascurabile rispetto al periodo di dimezzamento, $T_{1/2}$, deve essere preso in considerazione il decadimento durante questo tempo di misurazione. Dopo aver corretto le letture dello strumento (velocità di conteggio, corrente di ionizzazione, ecc.) per il fondo e, se necessario, per perdite dovute a effetti elettronici, la correzione di decadimento durante il tempo di misurazione è:

$$R_{\text{corr}} = \frac{R \frac{t_m \ln 2}{T_{1/2}}}{1 - \exp\left(-\frac{t_m \ln 2}{T_{1/2}}\right)}$$

R_{corr} = valore letto tenendo conto della correzione all'inizio della singola misura,

R = valore letto prima della correzione per il decadimento, ma già corretto per il fondo, ecc.

I risultati delle determinazioni della radioattività presentano delle variazioni che derivano principalmente dalla natura della trasformazione nucleare. Deve essere registrato un numero sufficiente di impulsi per poter tener conto delle variazioni del numero di trasformazioni per unità di tempo. La deviazione standard è data dalla radice quadrata degli impulsi; sono dunque necessari almeno 10000 impulsi per ottenere una deviazione standard che non sia superiore all'1 per cento (intervallo di confidenza: 1 sigma).

Tutte le indicazioni della quantità di radioattività devono essere accompagnate dall'indicazione della data e, se necessario, dell'ora in cui è stata effettuata la misura. Questa indicazione della quantità di radioattività deve essere fatta considerando il fuso orario di riferimento (GMT, CET). La quantità di radioattività a tempi diversi può essere calcolata mediante l'equazione esponenziale di decadimento o mediante tabelle.

La radioattività di una soluzione è espressa per unità di volume, in modo da ottenere la concentrazione radioattiva.

PUREZZA RADIONUCLIDICA

Nella maggioranza dei casi, per poter indicare la purezza radionuclidica di una preparazione radiofarmaceutica, occorre conoscere l'identità di ogni radionuclide presente e la sua radioattività. La metodica più conveniente per lo studio della purezza radionuclidica è la spettrometria gamma. Tale metodica però non è universalmente utilizzabile in quanto normalmente le impurezze di alfa e beta emettitori non sono rivelate e, quando sono impiegati rivelatori al sodio ioduro, i picchi dovuti alle impurezze degli emettitori gamma sono spesso mascherati dallo spettro del radionuclide principale.

Le singole monografie stabiliscono la purezza radionuclidica necessaria (per esempio, lo spettro dei raggi gamma non deve differire in maniera significativa da quello di una preparazione standardizzata) e possono eventualmente precisare i limiti delle impurezze radionuclidiche specifiche (per esempio, cobalto-60 nel cobalto-57). Per quanto queste specificazioni siano necessarie, esse non possono da sole garantire che la purezza radionuclidica di una preparazione sia sufficiente da permettere che questa sia usata nell'uomo. Per tale ragione il produttore deve analizzare scrupolosamente il prodotto, in particolare deve ricercare le impurezze a vita lunga nelle preparazioni di radionuclidi a vita breve dopo un tempo opportuno di decadimento. In questo modo il produttore può ottenere le informazioni sulla qualità dei metodi di fabbricazione e l'efficacia delle procedure di controllo che effettua. Nel caso in cui devono essere identificati e/o differenziati due o più radionuclidi emettitori di positroni, come per esempio la impurezza di ^{18}F nelle preparazioni di ^{13}N , oltre alla spettrometria gamma deve essere effettuata la determinazione del periodo di dimezzamento.

A causa delle differenze nei periodi di dimezzamento dei differenti radionuclidi eventualmente presenti, la purezza radionuclidica della preparazione radiofarmaceutica cambia con il tempo. I requisiti di purezza radionuclidica devono essere soddisfatti per tutto il periodo di validità. Quando il periodo di dimezzamento del radionuclide presente nella preparazione è breve può essere difficile effettuare questi saggi prima dell'autorizzazione al rilascio per l'uso del lotto. In questo caso il saggio rappresenta un controllo della qualità di produzione.

PUREZZA RADIOCHIMICA

La determinazione della purezza radiochimica richiede la separazione delle differenti specie chimiche conte-

menti il radionuclide e la misurazione della percentuale di radioattività associata alla sostanza chimica dichiarata. Le impurezze radiochimiche possono derivare da:

- produzione del radionuclide,
- procedure chimiche successive,
- separazione preparativa incompleta,
- cambiamenti chimici durante la conservazione.

I requisiti di purezza radiochimica devono essere soddisfatti per tutto il periodo di validità.

In linea di principio qualsiasi metodica di separazione analitica può essere impiegata nella determinazione della purezza radiochimica. Per esempio, le monografie dei prodotti radiofarmaceutici possono prevedere la cromatografia su carta (2.2.26), la cromatografia su strato sottile (2.2.27), l'elettroforesi (2.2.31), la cromatografia di esclusione (2.2.30), la gas cromatografia (2.2.28) e la cromatografia liquida (2.2.29). Nelle monografie è riportata la descrizione tecnica di questi metodi analitici. Devono essere infine prese precauzioni particolari per la protezione dalle radiazioni.

In ambito ospedaliero sono maggiormente usate la cromatografia su carta e la cromatografia su strato sottile. Nella cromatografia su carta e in quella su strato sottile, il volume specificato nella monografia viene depositato sulla linea di partenza, come prescritto nei metodi generali per la cromatografia. E' preferibile non diluire la preparazione in esame ma è importante evitare la deposizione di una quantità di radioattività tale che si abbiano delle perdite di conteggio per coincidenza al momento della misura della radioattività. In considerazione delle piccolissime quantità di materiale radioattivo utilizzato, è possibile aggiungere un supporto isotopico, se previsto nella specifica monografia. Dopo l'eluizione, il supporto cromatografico è seccato e la posizione delle aree radioattive può essere rivelata sia mediante autoradiografia, sia mediante misurazione della radioattività lungo tutto il supporto cromatografico usando appropriati contatori muniti di collimatore, oppure suddividendolo in strisce ed effettuando il conteggio di ciascuna porzione. La posizione delle aree radioattive ne permette l'identificazione chimica mediante il confronto con il cromatogramma ottenuto con soluzioni della medesima sostanza chimica (non radioattiva) e rivelato usando un metodo di rivelazione adatto.

La misura della radioattività può essere effettuata mediante integrazione della curva ottenuta utilizzando un registratore automatico o attraverso un contatore digitale. Il rapporto delle aree dei picchi presenti nella curva fornisce il rapporto della concentrazione radioattiva delle sostanze chimiche. Quando i supporti cromatografici vengono suddivisi in porzioni, i rapporti delle

quantità radioattive misurate per ciascuna porzione forniscono il rapporto delle concentrazioni delle specie chimiche radioattive presenti.

RADIOATTIVITÀ SPECIFICA

La radioattività specifica è generalmente calcolata tenendo conto della concentrazione radioattiva (radioattività per unità di volume) e della concentrazione della sostanza chimica considerata, dopo aver verificato che la radioattività è attribuibile al solo radionuclide considerato (purezza radionuclidica) e alla sola specie chimica considerata (purezza radiochimica).

La radioattività specifica varia con il tempo. Tutte le indicazioni della radioattività specifica devono essere accompagnate dalla data e, se necessario, dall'ora. I requisiti di radioattività specifica devono essere soddisfatti per tutto il periodo di validità.

PUREZZA CHIMICA

La purezza chimica viene valutata mediante la determinazione quantitativa delle singole impurezze chimiche specificate nella monografia.

PUREZZA ENANTIOMERICA

Se del caso, deve essere verificata la purezza enantiomerica.

DISTRIBUZIONE FISIOLÓGICA

Un saggio della distribuzione fisiologica è prescritto, se necessario, per alcune preparazioni radiofarmaceutiche. La distribuzione della radioattività osservata in determinati organi, tessuti o altri distretti del corpo di una specie animale appropriata (di solito ratti o topi) può dare un'indicazione efficace della distribuzione attesa nell'uomo e quindi dell'idoneità nei confronti dello scopo previsto.

La singola monografia descrive i dettagli per l'esecuzione del saggio ed i requisiti di distribuzione fisiologica a cui deve rispondere la preparazione radiofarmaceutica. Una distribuzione fisiologica conforme ai requisiti assicurerà che la distribuzione dei composti radioattivi è appropriata alla finalità prevista nell'uomo e che la sua distribuzione nelle aree non bersaglio sarà limitata.

In generale, il saggio si effettua come descritto di seguito.

Iniettare la preparazione in esame, per via endovenosa, a tre animali. In caso di necessità nella monografia sono specificati le specie, il sesso, il ceppo, il peso e/o

l'età degli animali. La soluzione iniettata è la preparazione radiofarmaceutica per uso umano. Qualora necessario, i prodotti sono ricostituiti secondo le istruzioni del produttore. In alcuni casi può essere necessaria la diluizione immediatamente prima dell'iniezione.

La somministrazione si effettua generalmente per via endovenosa nella vena caudale. In casi particolari possono essere usate altre vene come la safena, la femorale, la giugulare o le vene peniene. Gli animali che mostrano evidenza di travaso dell'iniezione (osservato al momento dell'iniezione o nel corso del successivo dosaggio della radioattività del tessuto) sono esclusi dal saggio.

Immediatamente dopo l'iniezione ciascun animale è posto in una gabbia separata che permette di raccogliere gli escreti e di evitare la contaminazione della superficie del corpo dell'animale.

Trascorso il periodo di tempo specificato dall'iniezione, gli animali sono sacrificati con un metodo appropriato e poi dissezionati. La determinazione della radioattività si effettua negli organi e tessuti selezionati usando uno strumento adatto come descritto altrove in questa monografia. La distribuzione fisiologica è poi calcolata ed espressa in termini di percentuale della radioattività che si trova in ciascuno degli organi o dei tessuti selezionati. Per questo scopo la radioattività in un organo può essere correlata alla radioattività iniettata da calcolarsi come differenza dalla quantità di radioattività misurata nella siringa prima e dopo l'iniezione. Per alcune preparazioni radiofarmaceutiche può essere appropriato determinare il rapporto della radioattività in campioni pesati di tessuti selezionati (radioattività/massa).

Perché la preparazione soddisfi ai requisiti del saggio la distribuzione della radioattività in almeno due dei tre animali deve essere conforme a tutti i criteri specificati.

STERILITÀ

Le preparazioni radiofarmaceutiche destinate alla somministrazione parenterale devono essere preparate in condizioni tali da escludere ogni contaminazione batterica e da garantirne la sterilità. Il saggio per la sterilità si effettua come descritto nel capitolo *Sterilità* (2.6.1). Particolari difficoltà possono presentarsi con alcune preparazioni radiofarmaceutiche a causa del breve periodo di dimezzamento dei radionuclidi, della ripartizione in lotti di piccole dimensioni e dei rischi di irradiazione. Pertanto non è sempre possibile attendere il risultato dei saggi di sterilità prima di autorizzare il rilascio e l'uso del lotto. In tali casi il metodo migliore per procedere è rappresentato dal rilascio parametrico (5.1.1) del prodotto purché sia fabbricato con un procedimento

completamente convalidato. Nel caso di produzione aseptica, il saggio della sterilità deve essere effettuato come un controllo di qualità della produzione.

Se la dimensione di un lotto della preparazione radiofarmaceutica è limitata ad uno o pochi campioni (per esempio una preparazione radiofarmaceutica terapeutica o con periodo di dimezzamento molto breve), non può essere applicato il campionamento del lotto per il saggio di sterilità. Se la preparazione radiofarmaceutica è sterilizzata mediante filtrazione e/o trattata asepticamente (5.1.1) la convalida del processo è critica.

Se il periodo di dimezzamento del radionuclide è brevissimo (per esempio meno di 20 min), la somministrazione della preparazione radiofarmaceutica al paziente è generalmente "in linea" con un sistema di produzione convalidato.

Per ragioni di sicurezza (alto livello di radioattività) non è possibile usare per le preparazioni radiofarmaceutiche, le quantità richieste nel saggio di sterilità (2.6.1). Al fine di ridurre i rischi di irradiazione per il personale si deve utilizzare di preferenza il metodo di filtrazione su membrana.

Nonostante le prescrizioni relative all'uso di sostanze antimicrobiche nelle *Preparazioni parenterali* (0520) la loro aggiunta alle preparazioni radiofarmaceutiche in flaconi multidose, a meno che non sia prescritto nella monografia, non è obbligatoria.

ENDOTOSSINE BATTERICHE - PIROGENI

Per alcune preparazioni radiofarmaceutiche è prescritto un saggio per le endotossine batteriche. Il saggio è effettuato come descritto nel metodo generale (2.6.14), tenendo conto delle precauzioni necessarie per limitare i rischi di irradiazione per il personale che effettua il saggio.

Il limite per le endotossine batteriche è indicato nella specifica monografia.

Quando la preparazione radiofarmaceutica per le sue caratteristiche provoca un'interferenza, mediante inibizione o attivazione, e non è possibile eliminare il fattore/i interferente/i, il saggio dei pirogeni (2.6.8) può essere richiesto specificamente.

Qualche volta è difficile effettuare questi saggi prima del rilascio del lotto per l'uso se il periodo di dimezzamento del radionuclide presente nella preparazione è breve. In questo caso il saggio rappresenta un controllo della qualità della produzione.

CONSERVAZIONE

1438

Conservare in recipienti ermeticamente chiusi, in un posto sufficientemente schermato per evitare l'irradiazione del personale da emissioni primarie o secondarie, e che sia conforme alla normativa internazionale e nazionale per la conservazione delle sostanze radioattive. Durante la conservazione i recipienti possono diventare scuri in seguito alle radiazioni emesse. Tale imbrunimento non comporta necessariamente un'alterazione della preparazione.

Le preparazioni radiofarmaceutiche devono essere utilizzate a breve scadenza e la fine del periodo di validità deve essere chiaramente indicata.

ETICHETTE

L'etichetta delle preparazioni radiofarmaceutiche soddisfa alla pertinente legislazione nazionale ed Europea.

L'etichetta sul recipiente primario indica:

- il nome della preparazione e/o il suo riferimento,
- il nome del produttore,
- un numero di identificazione,
- per le preparazioni liquide e gassose: la radioattività totale nel recipiente, o la concentrazione radioattiva per millilitro alla data e, se necessario, all'ora indicate, e il volume del liquido nel contenitore,
- per le preparazioni solide (come le preparazioni liofilizzate): la radioattività totale alla data e, se necessario, all'ora indicate. La preparazione è considerata come una preparazione liquida dopo la ricostituzione con la soluzione appropriata,
- per le capsule: la radioattività di ciascuna capsula alla data e, se necessario, all'ora indicate, ed il numero di capsule nel recipiente.

L'etichetta può essere adattata in alcuni casi (per esempio per le preparazioni radiofarmaceutiche che contengono radionuclidi a vita breve).

Inoltre, l'etichetta sulla confezione esterna indica:

- la via di somministrazione,
- il periodo di validità o la data di scadenza,
- il nome e la concentrazione degli agenti antimicrobici aggiunti,
- qualora appropriato, qualsiasi condizione particolare di conservazione.

PRODOTTI AVENTI IL RISCHIO DI TRASMETTERE GLI AGENTI DELLE ENCEFALOPATIE SPONGIFORMI ANIMALI

Producta cum possibili trasmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium

DEFINIZIONE

I prodotti con il rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali sono quelli che derivano da tessuti o secrezioni di animali suscettibili alle encefalopatie spongiformi trasmissibili ad eccezione di quegli animali che sono suscettibili solo per via sperimentale. Questa monografia si applica a tutte le sostanze o preparazioni ottenute da questi animali ed a tutte le sostanze o preparazioni per le quali i prodotti ottenuti da tali animali sono stati utilizzati come sostanze attive, eccipienti oppure sono stati utilizzati durante la produzione, per esempio come materiali grezzi, materie prime o reattivi.

PRODUZIONE

La produzione soddisfa al capitolo *Minimizzazione del rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali tramite prodotti medicinali (5.2.8)*.

1063

PRODOTTI ALLERGENICI

Producta allergenica

DEFINIZIONE

I prodotti allergenici sono preparazioni farmaceutiche derivate da estratti di materiali di partenza presenti in natura e contenenti allergeni, definiti come sostanze che inducono e/o provocano malattie allergiche (da ipersensibilità). Le componenti allergeniche sono di solito di natura proteica. I prodotti allergenici vengono impiegati per la diagnosi *in vivo* o il trattamento delle malattie allergiche (da ipersensibilità) attribuite ai rispettivi allergeni.

I prodotti allergenici sono disponibili come prodotti finiti, come preparazioni madri in forma essiccata, soluzioni o sospensioni destinate ad essere ulteriormente concentrate o diluite prima dell'uso o come preparazioni finali in soluzioni, sospensioni o liofilizzate. I prodotti allergenici destinati alla somministrazione parenterale, bronchiale e congiuntivale sono sterili.

Per *uso diagnostico*, i prodotti allergenici sono generalmente preparati come estratti non modificati in una soluzione al 50 per cento V/V di glicerolo per cutireazioni ("skin-prick testing"). Per la diagnosi per via intradermica o per i saggi di provocazione per via nasale, oculare o bronchiale, adatte soluzioni diluite di prodotti allergenici possono essere preparate mediante diluizione di estratti acquosi o glicerinati, o mediante ricostituzione immediatamente prima dell'uso di estratti liofilizzati non modificati.

Per *immunoterapia*, i prodotti allergenici possono essere o estratti non modificati o estratti modificati chimicamente e/o mediante adsorbimento su differenti supporti (per esempio, idrossido di alluminio, fosfato di calcio o tirosina).

Questa monografia non riguarda i prodotti chimici che vengono impiegati unicamente per la diagnosi della dermatite da contatto, i prodotti sintetizzati chimicamente, gli allergeni derivati dalla tecnologia del DNA ricombinante né riguarda i prodotti finiti prescritti individualmente per il singolo paziente. Non riguarda necessariamente i prodotti allergenici per uso veterinario.

PRODUZIONE

I prodotti allergenici derivano da un'ampia varietà di materiali di partenza allergenici. Sono spesso preparati come soluzioni madre di prodotti destinate ad essere ulteriormente diluite o concentrate prima dell'uso. Possono essere trattati per modificare o ridurre l'attività allergenica oppure possono rimanere non modificati.

Quando i prodotti allergenici sono fabbricati utilizzando materiali di origine umana o animale si applicano i requisiti del capitolo 5.1.7 *Sicurezza virale*.

MATERIALI DI PARTENZA

I materiali di partenza per la preparazione dei prodotti allergenici sono per la maggior parte pollini, muffe, acari, epiteli animali, veleni di imenotteri e alcuni alimenti.

Sono identificati dalla loro origine, natura, metodo di raccolta o produzione e pretrattamento, e sono conservati in determinate condizioni che riducono al minimo il deterioramento.

La raccolta o la produzione, così come il trattamento dei materiali di partenza, sono tali da assicurare una composizione qualitativa e quantitativa uniforme per quanto possibile da un lotto all'altro.

Pollini. Potenziali contaminanti chimici, quali pesticidi e metalli pesanti, devono essere ridotti al minimo. I pollini contengono non più dell'1 per cento di pollini estranei come determinato mediante esame microscopico. I pollini contengono non più dell'1 per cento di spore di muffe come determinato mediante esame microscopico.

Acari e muffe. Contaminanti biologicamente attivi quali le micotossine nelle muffe devono essere ridotti al minimo e ogni eventuale presenza deve essere motivata. Deve essere posta attenzione a ridurre al minimo la presenza di qualsiasi costituente allergenico dei terreni usati per la coltivazione di acari e muffe come materiali di partenza. L'uso di terreni di coltura che contengono sostanze di origine umana o animale deve essere motivato e, quando richiesti, tali terreni devono essere trattati in modo da assicurare l'inattivazione o l'eliminazione di possibili agenti di malattie trasmissibili.

Epiteli animali. Gli epiteli animali devono essere ottenuti da animali sani selezionati per evitare possibili agenti di malattie trasmissibili.

PROCESSO DI PRODUZIONE

I prodotti allergenici sono generalmente ottenuti per estrazione e possono essere purificati dai materiali di partenza utilizzando metodi appropriati per i quali sia stata dimostrata la capacità di conservare le proprietà biologiche delle componenti allergeniche. I prodotti allergenici sono prodotti in condizioni studiate per ridurre al minimo la crescita microbica e la degradazione enzimatica.

Una procedura di purificazione, se del caso, è condotta in modo da ridurre al minimo il contenuto di qualsiasi potenziale componente irritante a bassa massa molecolare e/o altre componenti non-allergeniche.

I prodotti allergenici possono contenere un appropriato conservante antimicrobico. La natura e la concentrazione del conservante antimicrobico devono essere giustificati.

Il processo di produzione comprende varie fasi.

Gli **estratti allergenici nativi** sono ottenuti dopo separazione dal materiale di partenza estratto.

I **prodotti allergenici intermedi** sono ottenuti dall'ulteriore trattamento o modificazione degli estratti allergenici nativi. La modificazione può essere realizzata mediante processi chimici (coniugazione chimica) o processi fisici (adsorbimento fisico su differenti supporti, per esempio idrossido di alluminio, fosfato di cal-

cio o tirosina). Possono essere anche modificati mediante inclusione in veicoli come liposomi o microsfele, o mediante l'aggiunta di altri agenti biologicamente attivi per aumentare l'efficacia o la sicurezza. I prodotti allergenici intermedi possono essere liofilizzati.

Le **preparazioni allergeniche madri** consistono di prodotti in soluzione o sospensione che non saranno ulteriormente trattate e/o modificate, e sono pronte per la diluizione o la ripartizione nei contenitori definitivi.

PREPARAZIONE DI RIFERIMENTO INTERNA

Una appropriata preparazione rappresentativa viene selezionata come Preparazione di Riferimento Interna ("In-House Reference Preparation", IHRP), caratterizzata e usata per verificare la riproducibilità dei lotti. La IHRP viene conservata in aliquote appropriate in condizioni che ne assicurino la stabilità, generalmente liofilizzata.

Caratterizzazione della Preparazione di Riferimento Interna. *A seconda della natura del materiale di partenza allergenico, della conoscenza delle componenti allergeniche e della disponibilità di reattivi adatti, così come dell'impiego previsto, la IHRP può essere caratterizzata a differenti livelli. La IHRP caratterizzata viene usata come riferimento nel controllo di lotto degli estratti allergenici nativi o dei prodotti allergenici intermedi e, se possibile, nel controllo di lotto delle preparazioni allergeniche finali.*

La Preparazione di Riferimento Interna (IHRP) viene caratterizzata mediante determinazione del contenuto in proteine e mediante un profilo proteico impiegando metodi pertinenti (quali isoelettrofocalizzazione, elettroforesi su gel di poliacrilammide, immunoelettroforesi o profilo delle masse molecolari). Le componenti allergeniche possono essere individuate mediante metodi appropriati (per esempio "immunoblotting" o radio-immunoelettroforesi crociata). La caratterizzazione delle componenti allergeniche può includere l'identificazione degli allergeni principali basata su tecniche sierologiche o tecniche diverse impiegando sieri individuali o miscele di sieri da pazienti allergici, o anticorpi policlonali o monoclonali allergene-specifici. Quando sono disponibili sostanze di riferimento per i singoli allergeni può essere effettuata la determinazione del loro contenuto. I singoli allergeni vengono identificati in accordo con la nomenclatura stabilita a livello internazionale, ogni volta che ciò è possibile.

Ove possibile, l'attività biologica della IHRP viene determinata mediante tecniche *in vivo* quali i saggi cutanei, ed espressa in unità di attività biologica. In caso contrario, per alcuni estratti, l'attività biologica può essere determinata mediante appropriati dosaggi

immunologici (per esempio, quelli basati sull'inibizione della capacità di legame di immunoglobuline E specifiche) o mediante tecniche quantitative per una singola componente maggiore.

IDENTIFICAZIONE

L'identità viene confermata nella fase intermedia o altra fase adatta mediante confronto con la IHRP impiegando la determinazione del profilo proteico con metodi appropriati (per esempio, isoelettrofocalizzazione, elettroforesi su gel di poliacrilammide con sodio dodecilsolfato o immunoelettroforesi).

SAGGI

Vari saggi biochimici ed immunologici sono stati sviluppati allo scopo di caratterizzare qualitativamente e quantitativamente gli allergeni. Tuttavia, alcuni metodi, in particolare quelli per la determinazione dell'attività allergenica e del profilo allergenico, non sono al momento applicabili a tutti i prodotti. Questo in quanto mancano le conoscenze riguardanti le componenti allergeniche o perché non sono disponibili i reattivi richiesti. Di conseguenza, i prodotti allergenici sono stati classificati in diverse categorie i cui saggi hanno requisiti specifici in accordo con la qualità e l'uso previsto.

Quando possibile i seguenti saggi vengono applicati alle preparazioni finali. In caso contrario, essi devono essere svolti sugli estratti il più tardi possibile nel processo di produzione, per esempio, nella fase immediatamente precedente la fase del processo (modificazione, diluizione, ecc.) che rende non più fattibile il saggio sulla preparazione finale.

Acqua (2.5.12). Non più del 5 per cento per i prodotti liofilizzati.

Sterilità (2.6.1). I prodotti allergenici destinati alla somministrazione per via parenterale, bronchiale e congiuntivale soddisfano al saggio per la sterilità.

Contenuto in proteine. Dall'80 per cento al 120 per cento del contenuto dichiarato di un dato lotto. Se l'attività biologica può essere determinata, allora il saggio per il contenuto proteico può essere omesso.

Profilo proteico. La composizione proteica determinata con un metodo appropriato corrisponde a quella della IHRP.

Tossicità anormale (2.6.9). I prodotti allergenici ottenuti da muffe e destinati alla somministrazione parenterale (eccetto lo "skin prick test") soddisfano al saggio della tossicità anormale per sierimmuni e vaccini per uso umano.

Possono essere applicati differenti saggi aggiuntivi, alcuni con selettività crescente, in funzione del prodotto allerge-

nico in esame, ma in ogni caso, per prodotti allergenici destinati all'uso terapeutico, un saggio convalidato in grado di misurare l'attività biologica (attività allergenica totale, determinazione dei singoli allergeni o ogni altro saggio giustificato) deve essere applicato.

Alluminio (2.5.13). Non meno dell'80 per cento e non più del 120 per cento della quantità dichiarata ma in ogni caso non più di 1,25 mg per dose umana, a meno che diversamente giustificato e autorizzato, quando l'idrossido di alluminio o il fosfato di alluminio vengono usati come adsorbenti.

Calcio (2.5.14). Non meno dell'80 per cento e non più del 120 per cento della quantità dichiarata quando il fosfato di calcio viene usato come adsorbente.

Profilo antigenico. Gli antigeni vengono identificati per mezzo di tecniche adatte impiegando anticorpi animali antigene-specifici.

Profilo allergenico. Le componenti allergeniche principali vengono identificate per mezzo di tecniche adatte impiegando anticorpi umani allergene-specifici.

Attività allergenica totale. L'attività è compresa tra il 50 per cento e il 200 per cento della quantità dichiarata come valutato mediante inibizione della capacità di legame di immunoglobuline E specifiche o un adatto metodo equivalente *in vitro*.

Singoli allergeni. Dal 50 per cento al 200 per cento della quantità dichiarata, determinata mediante un metodo adatto.

CONSERVAZIONE

I prodotti allergenici adsorbiti non devono essere congelati.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- l'attività biologica e/o il contenuto proteico e/o la concentrazione di estrazione,
- la via di somministrazione e l'uso previsto,
- le condizioni di conservazione,
- se del caso, il nome e la quantità del conservante antimicrobico aggiunto,
- per preparazioni liofilizzate:
 - il nome, la composizione e il volume del liquido da aggiungere per la ricostituzione,
 - il periodo di tempo entro il quale la preparazione deve essere usata dopo la ricostituzione,
- se del caso, che la preparazione è sterile,
- se del caso, il nome e la quantità dell'adsorbente.

PRODOTTI DI FERMENTAZIONE

Producta ab fermentatione

Questa monografia si applica ai prodotti indiretti dell'espressione genetica ottenuti mediante fermentazione. Non si applica:

- alle monografie della Farmacopea relative a vaccini per uso umano o per uso veterinario;
- ai prodotti ottenuti mediante linee cellulari continue di origine umana o animale;
- ai prodotti diretti dell'espressione genetica che si ottengono dalla trascrizione e dalla traduzione degli acidi nucleici in proteine, con o senza modifica post-traduzione;
- ai prodotti ottenuti per semi-sintesi a partire da un prodotto di fermentazione e ai prodotti ottenuti mediante trasformazione biocatalitica;
- ai terreni concentrati interi o ai prodotti grezzi di fermentazione.

Questa monografia, dà i requisiti generali per lo sviluppo e la produzione di prodotti di fermentazione. Questi requisiti possono non essere necessariamente completi per uno specifico caso; pertanto requisiti complementari o addizionali a quelli indicati possono essere imposti in una singola monografia o dall'Autorità competente.

DEFINIZIONE

Nell'ambito di questa monografia, i prodotti di fermentazione sono definiti come sostanze farmaceutiche, attive o inattive, prodotte mediante fermentazione controllata come prodotti indiretti dell'espressione genetica. Si tratta di metaboliti primari o secondari di microrganismi come batteri, lieviti, funghi, microalghe modificati e non modificati mediante le procedure tradizionali o mediante la tecnologia del DNA ricombinante (rDNA). Questi metaboliti comprendono vitamine, aminoacidi, antibiotici, alcaloidi e polisaccaridi. Essi possono essere ottenuti mediante processi di fermentazione per lotto o continua, seguita da procedure come l'estrazione, la concentrazione, la purificazione e l'isolamento.

PRODUZIONE

La produzione è basata su un processo che è stato convalidato e che si è dimostrato appropriato. Il grado di convalida dipende dalla natura critica della fase di produzione considerata.

CARATTERIZZAZIONE DEL MICRORGANISMO PRODUTTORE

La storia del microrganismo utilizzato per la produzione deve essere documentata. Il microrganismo deve essere caratterizzato in maniera appropriata. Questa caratterizzazione può comprendere la determinazione del fenotipo del microrganismo, i metodi macroscopici e microscopici e i saggi biochimici e, se appropriata, la determinazione del genotipo del microrganismo e i saggi di genetica molecolare.

PROCESSI CHE UTILIZZANO UN SISTEMA DI LOTTO DI SEMENZA

La *banca cellulare primaria* è una sospensione omogenea o un liofilizzato delle cellule iniziali ripartite in singoli recipienti al fine della conservazione. Si devono dimostrare la vitalità e la produttività delle cellule nelle condizioni di conservazione selezionate e la loro idoneità ad iniziare un processo di produzione soddisfacente dopo la conservazione stessa.

La propagazione della banca di cellule primarie può essere realizzata mediante un sistema di lotto di semenza utilizzando una banca di cellule di lavoro.

La *banca cellulare di lavoro* è una sospensione omogenea o un liofilizzato di materiale cellulare ottenuto dalla banca cellulare primaria, ripartita in volumi uguali in singoli recipienti ai fini della conservazione (per es. in azoto liquido).

La produzione può essere realizzata attraverso coltura per lotti o continua e può essere conclusa in condizioni definite.

Tutti i recipienti in una banca cellulare sono conservati in condizioni uguali. Una volta prelevati dalla fase di conservazione i singoli flaconi, le singole fiale o supporti di colture non sono reintrodotti nella banca cellulare.

PROCESSI CHE UTILIZZANO CRESCITA PER STADI IN COLTURE

Il contenuto di un recipiente della banca di cellule di lavoro è utilizzato, se necessario dopo risospensione, per preparare un inoculo in un terreno di coltura appropriato. Dopo un appropriato periodo di crescita, le colture sono usate per iniziare il processo di fermentazione, se necessario dopo una pre-coltura in un pre-fermentatore. Le condizioni da usare in ciascuna fase del processo sono definite e devono essere realizzate in ciascun ciclo produttivo.

CONTROLLO DEI CAMBIAMENTI

Se il processo di produzione è oggetto di una modifica che implica un cambiamento significativo del profilo delle impurezze del prodotto, le fasi critiche associate a questo cambiamento del profilo delle impurezze sono oggetto di una riconvalida.

Se il microrganismo utilizzato nella produzione subisce una modifica che provoca un cambiamento significativo del profilo delle impurezze del prodotto, le fasi critiche del processo di produzione associato con questo cambiamento, in particolare la procedura per la purificazione e l'isolamento, sono oggetto di una riconvalida.

La riconvalida prevede la dimostrazione che le nuove impurezze presenti nel prodotto in seguito alla modifica apportata siano adeguatamente controllate dalle procedure di saggio. Se necessario sono introdotti dei saggi complementari o alternativi con dei limiti appropriati.

Se la modifica del processo o del microrganismo provoca un aumento del livello di un'impurezza già presente, deve essere stabilita l'accettabilità di questo aumento.

Quando una banca di cellule primarie è sostituita, le fasi critiche del processo di produzione devono essere riconvalidate per dimostrare che la qualità e l'innocuità del prodotto non sono influenzate negativamente. Si deve prestare particolare attenzione ai possibili cambiamenti nel profilo delle impurezze del prodotto, se nel processo è stato introdotto un microrganismo nuovo o modificato.

MATERIE PRIME

Le materie prime utilizzate nella fermentazione e/o nei trattamenti successivi devono essere di qualità appropriata per l'uso previsto per esse. Le materie prime devono essere analizzate per assicurare che esse soddisfino alle specifiche scritte.

I livelli di contaminazione dei terreni di coltura e dell'aria utilizzata per l'areazione devono essere ridotti a un livello adeguatamente basso al fine di assicurare che se si verifica una contaminazione microbiologica questa non influenzerà la qualità, la purezza e l'innocuità del prodotto. L'aggiunta di componenti come elementi nutritivi, precursori e substrati durante la fermentazione deve essere effettuata in maniera asettica.

CONTROLLI DURANTE IL PROCESSO

I controlli durante il processo sono effettuati per assicurare la consistenza delle condizioni durante la fermentazione e i successivi trattamenti e la consistenza della qualità del prodotto isolato. Si deve verificare con particolare attenzione che qualsiasi contaminazione microbica che può influenzare negativamente la qualità, la purezza e l'innocuità del prodotto sia rivelata mediante i controlli che vengono effettuati.

Le condizioni di produzione possono essere controllate, come appropriato, mediante idonee procedure per esempio per controllare e verificare:

- temperatura,
- pH,
- entità di areazione,
- entità di agitazione,
- pressione,

e per controllare la concentrazione del prodotto richiesto.

TRATTAMENTI SUCCESSIVI ALLA FERMENTAZIONE

Alla fine della fermentazione, il microrganismo produttore è inattivato o eliminato. Ulteriori trattamenti sono applicati per ridurre a un livello accettabile i residui originati dal terreno di coltura e per assicurare che il prodotto desiderato sia ottenuto con una qualità costante.

Il processo di purificazione impiegato (per esempio trattamento con carbone attivato, ultrafiltrazione, estrazione con solvente) deve dimostrare di ridurre al minimo o di eliminare:

- i residui che derivano dal microrganismo produttore, i terreni di coltura, i substrati e i precursori,
- i prodotti indesiderati della trasformazione dei substrati e dei precursori.

Se necessario sono effettuati saggi appropriati sia come controlli durante il processo sia sul prodotto di fermentazione isolato.

IDENTIFICAZIONE, SAGGI E DOSAGGIO

I requisiti che il prodotto deve soddisfare durante il periodo di validità, così come i metodi di saggio specifici, sono riportati nella singola monografia.

PRODOTTI OTTENUTI CON LA TECNOLOGIA DEL DNA RICOMBINANTE

Producta ab arte ADN recombinandorum

Questa monografia dà i requisiti generali per lo sviluppo e la produzione di prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante (rDNA). Questi requisiti possono non essere necessariamente completi per uno specifico caso; pertanto requisiti complementari o addizionali a quelli indicati possono essere imposti in una singola monografia o dall'Autorità competente.

La monografia non si applica agli organismi viventi modificati da utilizzare direttamente sull'uomo o sull'animale come, per esempio, i vaccini vivi.

DEFINIZIONE

I prodotti della tecnologia del rDNA sono ottenuti mediante una modificazione genetica nella quale il DNA che codifica per il prodotto richiesto è introdotto, di solito utilizzando un plasmide o un vettore virale, in un microrganismo o in una linea cellulare idonea, dove questo DNA è espresso e tradotto in proteina. Il prodotto desiderato è successivamente recuperato mediante estrazione e purificazione. La cellula o il microrganismo che non contengono ancora il vettore sono definiti come cellula ospite e l'associazione stabile dei due, usata nel processo di produzione, è definita sistema ospite-vettore.

PRODUZIONE

La produzione è basata su un sistema di lotto di semenza convalidato che utilizza una combinazione ospite-vettore, dimostratasi idonea ed approvata dall'Autorità competente. Il sistema di lotto di semenza si avvale di una banca cellulare primaria e di una banca cellulare di lavoro, ottenute dal lotto di semenza primario della combinazione ospite-vettore. Si deve stabilire una descrizione dettagliata delle fasi di coltura, estrazione e purificazione e la definizione del lotto di produzione.

Quando i prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante sono preparati con materie di origine umana o animale si applicano i requisiti del capitolo 5.1.7. *Sicurezza virale.*

La determinazione dell'idoneità della combinazione ospite-vettore e la convalida del sistema di lotto di semenza comprendono i seguenti elementi.

CLONAGGIO ED ESPRESSIONE

L'idoneità del sistema ospite-vettore, in particolare per quello che riguarda la purezza microbiologica, si dimostra mediante i punti seguenti:

Caratterizzazione della cellula ospite per quanto riguarda l'origine, il fenotipo, il genotipo, e dei terreni di coltura cellulare;

Documentazione della strategia di clonaggio del gene e caratterizzazione del vettore ricombinante, incluso:

- i. origine e caratterizzazione del gene;
- ii. analisi della sequenza nucleotidica del gene clonato e delle zone di controllo contigue del vettore di espressione. Le sequenze clonate sono limitate al minimo e tutte le principali sequenze espresse sono chiaramente identificate e confermate a livello dell'RNA; la sequenza del DNA del gene clonato è confermata generalmente allo stadio di lotto di semenza e ai livelli uguali o superiori al normale livello di raddoppiamento della popolazione per una fermentazione completa. In alcuni sistemi, per esempio, quando copie multiple del gene sono inserite nel genoma di una linea cellulare continua, può non essere appropriato analizzare la sequenza del gene clonato a livello della produzione. In questi casi, può essere utile procedere con l'analisi mediante "Southern blot" del DNA cellulare totale o analizzare la sequenza dell'RNA messaggero (mRNA), prestando un'attenzione particolare alla caratterizzazione della proteina espressa;
- iii. costruzione, caratteristiche genetiche e struttura del vettore di espressione nella sua totalità.

Caratterizzazione del sistema ospite-vettore, compreso:

- i. meccanismo di trasferimento del vettore nelle cellule ospiti;
- ii. numero di copie, stato fisico e stabilità del vettore all'interno della cellula ospite;
- iii. mezzi utilizzati per promuovere e controllare l'espressione.

SISTEMA DI BANCA CELLULARE

La *banca cellulare primaria* è una sospensione omogenea delle cellule originali già trasformate per introduzione del vettore di espressione contenente il gene desiderato, ripartita in volumi uguali in recipienti

singoli per la conservazione (per esempio in azoto liquido). In alcuni casi, può essere necessario stabilire banche cellulari primarie separate per il vettore di espressione e per le cellule ospiti.

La *banca cellulare di lavoro* è una sospensione omogenea del materiale cellulare derivato dalla o dalle banche cellulari primarie per un numero limitato di passaggi, ripartita in volumi uguali in recipienti singoli per la conservazione (per esempio in azoto liquido).

In entrambe queste banche cellulari, tutti i recipienti sono trattati in maniera identica durante la conservazione ed una volta usciti dal luogo di conservazione essi non sono reintrodotti nella riserva cellulare.

La banca cellulare può essere utilizzata per la produzione con un numero definito di passaggi oppure per la produzione in coltura continua.

Produzione con un numero definito di passaggi

Questo metodo di coltura è definito da un numero limitato di passaggi o di raddoppi di popolazione che non deve essere superato nel corso della produzione. Si deve indicare il numero massimo di raddoppi del numero di cellule o di livelli di passaggio durante i quali il processo di produzione abitualmente soddisfa ai criteri descritti più avanti.

Produzione in coltura continua

Con questo metodo di coltura il numero di passaggi o di raddoppi di popolazione non è limitato all'inizio della produzione. I criteri della raccolta e della fine della produzione devono essere definiti dal produttore. È necessario esercitare un controllo per tutta la durata della coltura; la frequenza richiesta e il tipo di controlli necessari dipendono dalla natura del sistema di produzione e del prodotto.

È necessario disporre di informazioni sull'integrità molecolare del gene espresso e sulle caratteristiche fenotipiche e genotipiche della cellula ospite dopo la coltivazione a lungo termine. L'accettazione delle raccolte per il successivo trattamento deve essere chiaramente vincolata al piano di controllo adottato ed è richiesta una definizione chiara del "lotto" prodotto destinato al successivo trattamento.

CONVALIDA DELLE BANCHE CELLULARI

La convalida delle banche cellulari comprende i punti seguenti:

- i. stabilità, dimostrata misurando la vitalità cellulare e la conservazione del vettore nelle cellule;
- ii. identità delle cellule mediante i caratteri fenotipici;

- iii. se del caso, la dimostrazione che le banche cellulari sono esenti da agenti estranei potenzialmente oncogeni o infettivi (virus, batteri, funghi o micoplasmi). Un'attenzione particolare deve essere prestata ai virus che possono comunemente contaminare le specie dalle quali deriva la linea cellulare. Alcune linee cellulari contengono dei virus endogeni, per esempio retrovirus, che possono non essere rapidamente eliminati. Si devono effettuare dei saggi per evidenziare l'espressione di questi organismi, nelle differenti condizioni note come favorevoli a provocare la loro induzione;
 - iv. per le cellule di mammiferi, disponibilità di informazioni dettagliate sul potenziale oncogeno della banca cellulare.
- mantenimento, nei limiti stabiliti, della resa di produzione della coltura;
 - stabilità adeguata di ciascun intermedio di produzione e/o di fabbricazione, quando durante il processo è prevista una fase di conservazione intermedia.

Caratterizzazione della sostanza

L'identità, la purezza, l'attività biologica e la stabilità della soluzione madre finale di prodotto sono inizialmente stabilite mediante la realizzazione di un numero rilevante di saggi chimici, fisici, immunochimici e biologici. Prima dell'immissione in commercio del prodotto, il fabbricante sottopone a saggio ciascun lotto per verificare l'identità e la purezza ed effettua un dosaggio appropriato.

Riproducibilità della produzione

Effettuare saggi appropriati per dimostrare la riproducibilità della produzione e della purificazione. Questi saggi comprendono, in particolare, saggi di caratterizzazione, controlli in corso di produzione e saggi sui prodotti finiti, come per esempio:

COMPOSIZIONE IN AMMINOACIDI

Analisi parziale della sequenza degli amminoacidi. I dati della sequenza permettono di confermare che l'estremità *N*-terminale della proteina è stata correttamente prodotta e che gli amminoacidi *C*-terminali non sono scomparsi.

Mappa peptidica. La mappa peptidica per segmentazione chimica o enzimatica del prodotto proteico e l'analisi con un metodo appropriato, come l'elettroforesi bidimensionale su gel, l'elettroforesi capillare o la cromatografia liquida, deve dimostrare che non vi sono differenze significative tra la proteina in esame e la preparazione di riferimento. La mappa peptidica può essere anche usata per dimostrare che i legami disolfuro sono corretti.

DETERMINAZIONE DELLA MASSA MOLECOLARE

Conservazione del gene clonato. La quantità minima in percentuale delle cellule contenenti il vettore o il gene clonato dopo coltura è approvata dall'Autorità competente.

Proteine totali. Determinare la resa in proteine.

Purezza chimica. La purezza del prodotto proteico è analizzata per confronto con una preparazione di riferimento mediante un metodo appropriato come la cromatografia liquida, l'elettroforesi capillare o l'elettroforesi su gel di poliacrilammide e sodio dodecilsolfato.

Proteine derivate dalla cellula ospite. Le proteine derivate dalla cellula ospite sono rivelate mediante metodi

CONTROLLO DELLE CELLULE

L'origine, la forma, la conservazione, l'uso e la stabilità alla frequenza di utilizzazione prevista, devono essere documentati in modo esauriente per tutte le banche cellulari nelle condizioni di conservazione e di recupero della coltura. Le nuove banche cellulari devono essere completamente convalidate.

CONVALIDA DEL PROCESSO DI PRODUZIONE

Estrazione e purificazione

Si deve convalidare per ciascuna fase della procedura di estrazione e di purificazione la capacità di eliminare e/o inattivare le sostanze contaminanti derivate dalla cellula ospite o dal terreno di coltura, in particolare particelle virali, proteine, acidi nucleici e sostanze aggiunte.

Gli studi di convalida sono effettuati per dimostrare che il processo di produzione soddisfa abitualmente ai criteri seguenti:

- esclusione di agenti estranei dal prodotto. Conviene effettuare, per esempio, degli studi sui virus che possiedono le caratteristiche chimico-fisiche appropriate e stabilire il potere di capacità di riduzione di questi contaminanti di ciascuna fase principale della purificazione;
- eliminazione adeguata dal prodotto dei contaminanti derivati dal vettore, dalla cellula ospite, dal terreno di coltura e dai reattivi. Il potere di riduzione nei riguardi del DNA deve essere stabilito con il metodo della contaminazione intenzionale. La riduzione delle proteine di origine animale può essere determinata mediante metodi immunochimici;

immunochimici usando, per esempio, antisieri policlonali diretti contro i componenti proteici del sistema ospite-vettore utilizzato per la fabbricazione del prodotto, salvo prescrizione diversa. Si possono utilizzare le procedure seguenti: dosaggi per competizione in fase liquida (per esempio dosaggio immunoradiologico), dosaggi per legame diretto in fase liquida e dosaggi per legame diretto usando antigeni immobilizzati su membrane di nitrocellulosa o simili (per esempio dosaggio per "dot-blot" immunologico, "Western blots"). I requisiti generali per la convalida delle procedure dei dosaggi immunologici sono riportati nel capitolo *Metodi immunochimici (2.7.1)*. Inoltre i metodi di dosaggio immunologico dei contaminanti associati alle cellule ospiti soddisfano ai criteri seguenti:

- *Preparazioni di antigeni.* Si producono antisieri diretti contro una preparazione di antigeni derivante dall'organismo ospite, nel quale è stato inserito il vettore usato nel processo di fabbricazione, mancante del gene specifico che codifica per il prodotto. Questa cellula ospite è coltivata e le proteine si estraggono usando condizioni identiche a quelle usate per la coltura e l'estrazione durante il processo di fabbricazione. È inoltre possibile usare, per la preparazione degli antisieri, preparazioni di antigeni parzialmente purificate mediante applicazione di alcune fasi della purificazione del processo di fabbricazione.
- *Taratura e standardizzazione.* Dati quantitativi si ottengono per confronto con le curve dose-risposta ricavate usando preparazioni di riferimento di antigeni proteici derivati dalla cellula ospite. Poiché queste preparazioni sono miscele di proteine non ben definite, si prepara e si calibra una preparazione di riferimento mediante un appropriato metodo di determinazione delle proteine. Questa preparazione è conservata in modo idoneo ad un uso per un tempo prolungato.
- *Antisieri.* Gli antisieri contengono anticorpi ad alta avidità di legame, capaci di riconoscere il maggior numero di proteine differenti nella miscela di antigeni e che non danno reazione crociata con il prodotto.

DNA derivato dalla cellula ospite e dal vettore. Il DNA residuo si rivela mediante analisi per ibridazione, usando tecniche analitiche indipendenti dalla sequenza e di appropriata sensibilità o mediante altre tecniche analitiche di sensibilità adeguata.

Analisi per ibridazione.

Il DNA del campione in esame è denaturato in modo da ottenere un DNA a singola elica, immobilizzato su nitrocellulosa o un altro filtro appropriato e ibridato

con del DNA marcato (sonde di DNA) preparato a partire dal sistema ospite-vettore usato nella fabbricazione. Gli approcci sperimentali possibili sono numerosi, ma i metodi di ibridazione utilizzati per misurare il DNA del sistema ospite-vettore devono soddisfare i criteri seguenti:

- *Sonde di DNA.* Il DNA purificato è ottenuto dal sistema ospite-vettore coltivato nelle stesse condizioni di quelle utilizzate nel processo di fabbricazione. Il DNA cromosomico dell'ospite e il DNA del vettore possono essere preparati separatamente e usati come sonde.
- *Taratura e standardizzazione.* Dati quantitativi sono ottenuti per confronto con le risposte ottenute usando le preparazioni di riferimento. Le sonde del DNA cromosomico e le sonde del DNA del vettore sono usate rispettivamente con delle preparazioni di riferimento di DNA cromosomico e di DNA del vettore. Le preparazioni di riferimento sono tarate mediante misurazioni spettroscopiche e conservate in modo idoneo ad un uso per un tempo prolungato.
- *Condizioni di ibridazione.* Le condizioni di ibridazione sono tali da assicurare un'ibridazione specifica tra le sonde e le preparazioni di riferimento del DNA, e le sostanze medicamentose non devono interferire con l'ibridazione alla concentrazione usata.

Tecniche indipendenti dalla sequenza

Le procedure appropriate comprendono: la rivelazione dei residui di citosina solfonata nel DNA a singola elica (con immobilizzazione del DNA su filtro, derivatizzazione *in situ* delle citosine, poi rivelazione e analisi quantitativa usando un anticorpo diretto nei confronti del gruppo solfonato); la rivelazione del DNA a singola elica usando un frammento di DNA a singola elica legato ad una proteina e ad un anticorpo per questa proteina. Né l'una né l'altra procedura richiede l'uso di DNA specifico dell'ospite o del vettore come dosaggio di riferimento. Tuttavia il metodo usato deve essere convalidato per assicurare il parallelismo con il DNA di riferimento usato, la linearità della risposta e la non interferenza della sostanza medicamentosa e degli eccipienti della formulazione alle diluizioni usate nel dosaggio.

IDENTIFICAZIONE, SAGGI E DOSAGGIO

I requisiti che il prodotto finale (materia prima o forma farmaceutica) deve soddisfare durante il periodo di validità, come pure i saggi specifici, sono indicati nelle singole monografie.

SIERIMMUNI DI ORIGINE ANIMALE PER USO UMANO

Immunosera ex animali ad usum humanum

DEFINIZIONE

I sierimmuni di origine animale per uso umano sono preparazioni liquide o liofilizzate contenenti immunoglobuline purificate o frammenti di immunoglobuline ottenute dal siero o dal plasma di animali immunizzati di diverse specie.

Le immunoglobuline o i frammenti di immunoglobuline hanno il potere di neutralizzare specificamente o di legarsi all'antigene usato per l'immunizzazione. Gli antigeni comprendono tossine microbiche o di altro tipo, gli antigeni di origine umana, sospensioni di antigeni virali e batterici e veleni di serpenti, scorpioni e ragni. La preparazione è destinata alla somministrazione endovenosa o intramuscolare, dopo diluizione se del caso.

PRODUZIONE

DISPOSIZIONI GENERALI

Il metodo di produzione deve aver dimostrato di fornire in maniera riproducibile sierimmuni di sicurezza, attività nell'uomo e stabilità accettabili.

Ogni reattivo di origine biologica usato nella produzione del sierimmune deve essere esente da contaminazione di batteri, funghi e virus. I requisiti generali del capitolo 5.1.7 *Sicurezza virale* si applicano alla produzione di sierimmuni di origine animale per uso umano insieme con i requisiti più specifici relativi alla sicurezza virale riportati in questa monografia. Il metodo di preparazione comprende una o più fasi di cui è stata dimostrata la capacità di eliminare o di inattivare agenti noti di infezione.

I metodi usati per la produzione devono essere convalidati, efficaci, riproducibili e non devono influenzare negativamente l'attività biologica del prodotto.

Il metodo di produzione è convalidato per dimostrare che il prodotto soddisfa al saggio per la tossicità anormale per sierimmuni e vaccini per uso umano (2.6.9).

Preparazione di riferimento. Utilizzare un lotto che si è dimostrato idoneo negli studi clinici o un altro lotto

rappresentativo come preparazione di riferimento nei saggi per le proteine ad elevata massa molecolare e per la purezza.

ANIMALI

Utilizzare animali di una specie approvata dall'Autorità competente, sani e destinati esclusivamente alla produzione di sierimmuni. Essi sono sottoposti a saggi e devono essere esenti da una lista definita di agenti infettivi. L'introduzione di animali in una colonia è effettuata secondo procedure specifiche che includono la definizione di misure di quarantena. Se del caso, possono essere ricercati ulteriori agenti specifici in relazione alla situazione geografica dell'ambiente dove sono allevati gli animali. Il loro nutrimento deve provenire da una fonte controllata e non deve essere aggiunta alcuna proteina animale. I fornitori di animali sono certificati dall'Autorità competente.

Se gli animali subiscono un trattamento antibiotico viene rispettato un periodo di attesa prima del prelievo del sangue o del plasma. Gli animali non devono essere trattati con penicillina. Se agli animali è somministrato un vaccino vivo, è imposto un adeguato periodo di attesa tra la vaccinazione ed il prelievo di siero o di plasma per la produzione del sierimmune.

IMMUNIZZAZIONE

Gli antigeni usati sono, nei casi appropriati, identificati e caratterizzati e, se necessario, devono dimostrare di essere esenti da agenti infettivi estranei. Ciascun antigene è identificato dal suo nome e un numero di lotto; si registrano le informazioni sulla loro origine e la loro preparazione.

Gli animali selezionati sono isolati per almeno 1 settimana prima di essere immunizzati secondo uno schema definito con delle iniezioni di richiamo ad intervalli appropriati. Si possono utilizzare degli adiuvanti.

Lo stato di salute generale degli animali è sorvegliato e la produzione di anticorpi specifici è controllata ad ogni ciclo di immunizzazione.

Gli animali subiscono un esame minuzioso prima del prelievo del sangue o del plasma. Se un animale presenta una qualsiasi lesione patologica non legata al processo di immunizzazione, questo animale e gli animali dello stesso gruppo non devono essere utilizzati a meno che non sia evidente che il loro utilizzo non comprometta l'innocuità del prodotto.

PRELIEVO DEL SANGUE O DEL PLASMA

Il prelievo del sangue si effettua per iniezione venosa o per plasmaferesi. La zona di iniezione è rasata, pulita e disinfettata. Gli animali possono essere anestetizzati in condizioni tali da non influenzare la qualità del prodotto. Salvo indicazione contraria, può essere aggiunto

un conservante antimicrobico. Il sangue o il plasma sono prelevati in maniera da mantenere il prodotto sterile. Il prelievo è effettuato in un luogo diverso da quello di allevamento degli animali e di purificazione dei sierimmuni. Se il sangue o il siero devono essere conservati prima delle tappe successive di produzione, si devono prendere delle precauzioni per evitare la contaminazione microbica.

Più campioni unitari di plasma o di siero possono essere mescolati prima della purificazione. Prima di essere purificati, i campioni unitari o le miscele subiscono i saggi seguenti.

Saggi per virus contaminanti. Se è stato aggiunto un conservante antimicrobico questo deve essere neutralizzato prima di effettuare i saggi o questi sono effettuati su un campione prelevato prima dell'aggiunta del conservante antimicrobico. Ciascuna miscela è sottoposta ad appropriati saggi *in vitro* per rivelare i virus contaminanti.

Ciascuna miscela è sottoposta a saggio per evidenziare la presenza di virus mediante inoculazione su colture cellulari capaci di rilevare un ampio spettro di virus significativi per il prodotto considerato.

Attività. Effettuare un dosaggio biologico come indicato nella monografia ed esprimere il risultato in Unità Internazionali per millilitro, se del caso. Può anche essere utilizzato un metodo *in vitro* convalidato.

Contenuto di proteine. Diluire il prodotto in esame in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere una soluzione contenente circa 15 mg di proteine in 2 ml. In una provetta da centrifuga a fondo tondo introdurre 2 ml di questa soluzione. Aggiungere 2 ml di una soluzione (75 g/l) di *sodio molibdato R* e 2 ml di una miscela di 1 volume di *acido solforico esente da azoto R* e 30 volumi di *acqua R*. Agitare, centrifugare per 5 min, separare il liquido surnatante e lasciare sgocciolare la provetta capovolta su carta da filtro. Determinare l'azoto nel residuo mediante mineralizzazione con acido solforico (2.5.9). Calcolare il contenuto di proteine moltiplicando il risultato per 6,25. Il contenuto è compreso nei limiti approvati.

PURIFICAZIONE E INATTIVAZIONE VIRALE

Le immunoglobuline sono concentrate e purificate per precipitazione frazionata, per cromatografia, per immunoadsorbimento o mediante altri metodi chimici o fisici. Le proteine possono subire un ulteriore trattamento enzimatico. I metodi sono selezionati e convalidati al fine di evitare una contaminazione in tutte le fasi del trattamento e di evitare la formazione di aggregati proteici che possano modificare le caratteristiche immunologiche del prodotto. Nel caso di prodotti che

devono contenere immunoglobuline frammentate, i metodi sono convalidati per garantire una frammentazione totale. I procedimenti di purificazione utilizzati devono essere tali da non provocare la formazione di componenti supplementari che possono compromettere la qualità e l'innocuità del prodotto.

Salvo eccezione giustificata ed autorizzata, l'eliminazione e/o l'inattivazione di virus sono effettuate secondo procedure convalidate. Queste procedure sono selezionate per evitare la formazione di polimeri o di aggregati e, a meno che il prodotto sia costituito da frammenti Fab', per minimizzare la separazione di F(ab)'₂ in frammenti Fab'.

Dopo purificazione e trattamento per eliminare e/o inattivare i virus, può essere aggiunto uno stabilizzante al prodotto intermedio che può essere conservato per un periodo definito sulla base dei dati di stabilità.

Un prodotto intermedio può essere utilizzato per la preparazione del bulk finale solo se soddisfa ai requisiti seguenti.

Purezza. Esaminare mediante una elettroforesi su gel di poliacrilammide in condizioni non riducenti (2.2.31) a confronto con una preparazione di riferimento. Confrontare l'intensità delle bande. Non ci sono bande supplementari.

BULK FINALE

Il bulk finale è preparato da un prodotto intermedio unico o da una miscela di prodotti intermedi ottenuti da animali della stessa specie. Possono essere mescolati prodotti intermedi con specificità diverse.

Possono essere aggiunti un conservante antimicrobico e uno stabilizzante. Se al sangue o al plasma è stato aggiunto un conservante antimicrobico, la stessa sostanza è utilizzata come antimicrobico nel bulk finale.

Per la preparazione del lotto finale possono essere utilizzati solo bulk finali che soddisfano ai requisiti seguenti.

Conservante antimicrobico. Se del caso, determinare il contenuto del conservante antimicrobico con un metodo chimico-fisico appropriato. Il contenuto non è inferiore all'85 per cento né superiore al 115 per cento del contenuto indicato in etichetta.

Sterilità (2.6.1). Il sierimmune soddisfa al saggio di sterilità.

LOTTO FINALE

Il bulk finale del sierimmune è ripartito in maniera aseptica in recipienti sterili e inviolabili. I recipienti sono chiusi in modo da prevenire qualsiasi contaminazione. Un lotto finale può essere rilasciato se soddisfa ai requisiti specificati di seguito in Identificazione, Saggi ed Attività. Se i saggi Osmolalità, Contenuto di

Sierimmuni di origine animale per uso umano

proteine, Distribuzione delle dimensioni molecolari, Conservante antimicrobico, Stabilizzanti, Purezza, Proteine estranee, Albumina, Attività sono stati effettuati con risultati soddisfacenti sul bulk finale, essi possono essere omessi sul lotto finale.

Ricostituire la preparazione in esame come indicato in etichetta immediatamente prima di effettuare l'identificazione, i saggi (salvo quelli di solubilità e di contenuto di acqua) e la determinazione dell'attività.

IDENTIFICAZIONE

Stabilire l'identità mediante saggi immunologici e, se necessario, mediante la determinazione dell'attività biologica. La determinazione dell'attività può anche servire per l'identificazione.

CARATTERI

I sierimmuni sono liquidi da limpidi a opalescenti, da incolore a debolmente gialli. Non presentano torbidità. I prodotti liofilizzati si presentano come polveri di massa solida o friabile, bianca o leggermente gialla. Dopo ricostituzione essi hanno le stesse caratteristiche delle preparazioni liquide.

SAGGI

Solubilità. Aggiungere al contenuto di un recipiente della preparazione in esame il volume di liquido indicato in etichetta. La preparazione si scioglie completamente nel tempo indicato in etichetta.

Volume estraibile (2.9.17). Il sierimmune soddisfa al saggio del volume estraibile.

pH (2.2.3). Il pH è compreso nei limiti approvati per il prodotto considerato.

Osmolalità (2.2.35). Non meno di 240 mosmol/kg dopo diluizione nei casi appropriati.

Contenuto di proteine. Dal 90 per cento al 110 per cento della quantità indicata in etichetta e al massimo 100 g/l. Diluire la preparazione in esame in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* fino ad ottenere una soluzione contenente circa 15 mg di proteine in 2 ml di questa soluzione. In una provetta da centrifuga a fondo tondo introdurre 2 ml di questa soluzione. Aggiungere 2 ml di una soluzione (75 g/l) di *sodio molibdato R* e 2 ml di una miscela di 1 volume di *acido solforico esente da azoto R* e 30 volumi di *acqua R*. Agitare, centrifugare per 5 min, separare il liquido surnatante e lasciare sgocciolare la provetta capovolta su carta da filtro. Determinare l'azoto nel residuo mediante mineralizzazione con acido solforico (2.5.9). Calcolare il contenuto di proteine moltiplicando il risultato per 6,25.

Distribuzione delle dimensioni molecolari. Effettuare una cromatografia liquida (2.2.29 o 2.2.30). Il sierimmune è conforme alla specifica per il prodotto considerato.

Conservante antimicrobico. Se del caso, determinare il contenuto di conservante antimicrobico con un metodo chimico-fisico appropriato. La quantità di conservante non è inferiore al contenuto minimo riconosciuto efficace, né superiore al 115 per cento del valore indicato in etichetta.

Fenolo (2.5.15). Non più di 2,5 g/l per le preparazioni contenenti fenolo.

Stabilizzante. Determinare il contenuto dello stabilizzante con un metodo chimico-fisico appropriato. La preparazione contiene non meno dell'80 per cento e non più del 120 per cento della quantità di stabilizzante indicata in etichetta.

Purezza. Esaminare mediante una elettroforesi su gel di poliacrilammide in condizioni non riducenti (2.2.31) a confronto con una preparazione di riferimento. Non sono presenti bande supplementari nella preparazione in esame.

Proteine estranee. Dopo l'esame mediante saggi di precipitazione con sierimmuni specifici sono rivelate solo proteine della specie animale dichiarata, salvo indicazione contraria, per esempio, se durante la produzione è stato utilizzato materiale di origine umana.

Albumina. Salvo indicazione contraria nella monografia, il prodotto esaminato mediante elettroforesi contiene albumina nel limite approvato per il prodotto considerato e comunque non più del 3 per cento.

Acqua (2.5.12). Non più del 3 per cento.

Sterilità (2.6.1). Il sierimmune soddisfa al saggio di sterilità.

Pirogeni (2.6.8). Salvo indicazione contraria giustificata ed autorizzata, il sierimmune soddisfa al saggio dei pirogeni. Salvo indicazione contraria iniettare a ciascun coniglio 1 ml per chilogrammo di massa corporea.

ATTIVITÀ

Effettuare un saggio biologico come indicato nella monografia ed esprimere i risultati in Unità Internazionali per millilitro, nel caso appropriato. Può anche essere utilizzato un metodo *in vitro* convalidato.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce, alla temperatura indicata in etichetta. I sierimmuni non devono essere congelati.

Data di scadenza. La data di scadenza è calcolata dall'inizio della determinazione dell'attività.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il numero di Unità Internazionali per millilitro, se del caso,
- la quantità di proteine per recipiente,
- nel caso dei sierimmuni liofilizzati:
 - il nome e il volume di liquido di ricostituzione da aggiungere,
 - l'indicazione che il sierimmune deve essere utilizzato immediatamente dopo la ricostituzione,
 - il tempo richiesto per una completa dissoluzione,
- la via di somministrazione,
- le condizioni di conservazione,
- la data di scadenza, ad eccezione di recipienti da meno di 1 ml confezionati singolarmente; la data di scadenza può essere omessa dall'etichetta del recipiente purché la confezione e l'etichetta indichino che il recipiente deve essere mantenuto nella confezione fino al momento dell'uso,
- il nome della specie animale di origine,
- il nome e la quantità di ogni agente antimicrobico, di ogni stabilizzante, di ogni altra sostanza aggiunta al sierimmune.

SIERIMMUNI PER USO VETERINARIO

Immunosera ad usum veterinarium

DEFINIZIONE

I sierimmuni per uso veterinario sono preparazioni contenenti immunoglobine, immunoglobine purificate o frammenti di immunoglobine ottenute dal siero o dal plasma di animali immunizzati. Esse possono essere preparazioni grezze di anticorpi monoclonali o preparazioni purificate.

Le immunoglobine o i frammenti di immunoglobine hanno il potere di neutralizzare specificamente l'antigene utilizzato per l'immunizzazione. Gli antigeni comprendono tossine microbiche o altre tossine, antigeni virali e batterici, veleni di serpenti ed ormoni. La preparazione è destinata alla somministrazione parenterale per fornire un'immunità passiva.

PRODUZIONE

DISPOSIZIONI GENERALI

I sierimmuni sono ottenuti dal siero o dal plasma di animali sani immunizzati mediante somministrazione di un antigene o più antigeni idonei.

Si deve dimostrare che il metodo di produzione dà in maniera consistente lotti di sierimmune di sicurezza (5.2.6) ed efficacia (5.2.7) accettabili.

ANIMALI DONATORI

Gli animali utilizzati sono riservati esclusivamente alla produzione di sierimmuni. Essi devono essere mantenuti in condizioni il più possibile protette per evitare l'introduzione di malattie. Si devono effettuare saggi sugli animali donatori e su qualsiasi animale a contatto con essi e si deve dimostrare che sono esenti dagli agenti infettivi riportati in una lista definita. Questi saggi sono ripetuti ad intervalli appropriati.

La lista di agenti per i quali i saggi sono effettuati comprende non solo gli agenti che sono specifici per l'animale donatore ma anche quelli che sono specifici per la specie bersaglio che riceve il prodotto.

Laddove non sia stato dimostrato che gli animali donatori sono esenti da uno specifico agente patogeno, si deve fornire una giustificazione e si deve includere una procedura convalidata di attivazione o di purificazione nel processo di fabbricazione. Gli alimenti degli animali devono provenire da fonti controllate. Quando si utilizzano come animali donatori dei polli, usare polli provenienti da un allevamento esente da microrganismi patogeni specificati (5.2.2). Se applicabile alle specie utilizzate, si devono prendere misure appropriate per evitare qualsiasi contaminazione da parte degli agenti responsabili delle encefalopatie spongiformi trasmissibili.

Gli animali introdotti nel gruppo devono, per quanto più possibile, provenire da una fonte conosciuta e si deve disporre della storia della loro nascita e del loro allevamento. L'introduzione degli animali nel gruppo rispetta procedure specifiche tra le quali misure definite di quarantena. Durante il periodo di quarantena gli animali sono posti in osservazione e sottoposti a saggio per stabilire se essi sono esenti dagli agenti specifici indicati nella lista definita per gli animali donatori. Può essere necessario sottoporre a saggio gli animali in quarantena in base alla storia della loro nascita e dell'allevamento e di ogni informazione mancante sulla loro origine, per verificare se vi è la presenza di altri agenti infettivi.

Si deve registrare qualsiasi trattamento medico di routine o terapeutico somministrato agli animali durante o dopo il periodo di quarantena.

AGENTE IMMUNIZZANTE

I principi descritti nella sezione Produzione della monografia *Vaccini per uso veterinario (0062)* si applicano alla produzione dell'immunogeno. Identificare e caratterizzare l'antigene utilizzato. Controllare i materiali di partenza utilizzati per la preparazione dell'antigene per ridurre il rischio di contaminazione con agenti estranei. L'antigene può essere mescolato con un adiuvante appropriato. Produrre l'immunogeno in lotti. I lotti devono essere preparati e controllati in modo da garantire che ciascun lotto sia di uguale innocuità ed esente da agenti estranei e produca una risposta immunitaria soddisfacente e riproducibile.

IMMUNIZZAZIONE

Gli animali donatori sono immunizzati secondo uno schema definito. Per ciascun animale registrare i dettagli relativi alla dose dell'agente immunizzante, la via di somministrazione e le date di somministrazione. Mantenere in osservazione gli animali per controllare le condizioni generali di salute e la comparsa di anticorpi specifici a fasi appropriate della procedura di immunizzazione.

PRELIEVO DI SANGUE O DI PLASMA

Esaminare accuratamente gli animali prima di ogni prelievo. Utilizzare come donatori solo animali sani. Effettuare il prelievo del sangue per puntura venosa o plasmaferesi. Rasare, lavare e disinfettare la zona della puntura. Specificare ogni volta il metodo di prelievo e il volume da prelevare. Prelevare il sangue o il plasma in modo da conservare la sterilità del prodotto. Se il siero o il plasma sono conservati in attesa di un ulteriore trattamento, prendere precauzioni per evitare la contaminazione microbica.

Effettuare il prelievo del sangue o del plasma in un luogo diverso da quello in cui sono tenuti o allevati gli animali e dal luogo dove il sierimmune è ulteriormente trattato.

Stabilire criteri chiari per determinare i tempi che intercorrono tra l'immunizzazione e il primo prelievo di sangue o di plasma così come il tempo che intercorre tra i prelievi successivi e la durata del periodo nel quale sono eseguiti i prelievi. I criteri applicati devono tener conto dell'effetto del prelievo sulla salute e sul benessere del-

l'animale e dell'effetto, più o meno a lungo termine, sulla consistenza della produzione di lotti del prodotto finale.

Considerare il tasso di escrezione di qualsiasi residuo che può derivare dall'antigene immunizzante o dal medicinale somministrato. In caso di rischio di residui rilasciati da sostanze chimiche si deve considerare l'introduzione di un periodo di ritiro del prodotto finito. Se l'agente immunizzante è un organismo vivo, il tempo che intercorre tra l'immunizzazione e il prelievo deve tener conto del tempo necessario al donatore per eliminare l'immunogeno, in particolare se gli organismi vivi residui possono essere nefasti per il ricevente.

PREPARAZIONE DEL PRODOTTO FINITO

Si possono mescolare più prelievi singoli di plasma o di siero per formare una miscela destinata alla preparazione di un lotto. Più prelievi possono essere utilizzati per produrre una miscela e la dimensione della miscela deve essere definita. Se non si effettua una miscela, la procedura di produzione deve essere accuratamente controllata per garantire una riproducibilità soddisfacente del prodotto.

La sostanza attiva è sottoposta ad una procedura di purificazione e/o di inattivazione a meno che l'omissione di una tale fase sia giustificata ed autorizzata dall'Autorità competente. La procedura applicata deve essere stata convalidata e si deve dimostrare che non sia dannosa per l'attività biologica del prodotto. Gli studi di convalida devono stabilire la capacità della procedura di inattivare o di eliminare tutti i potenziali contaminanti come gli agenti patogeni che possono essere trasmessi dall'animale donatore alla specie bersaglio ricevente e gli agenti infettivi come quelli che sono responsabili di infezioni ubiquitarie negli animali donatori e non sono stati prontamente eliminati da questi animali donatori.

Per i sierimmuni purificati, le globuline che contengono le sostanze immunizzanti possono essere ottenute da sierimmuni grezzi mediante trattamento enzimatico e precipitazione frazionata o mediante altri metodi chimici o fisici appropriati.

Conservanti antimicrobici. I conservanti antimicrobici sono utilizzati per prevenire la spoliatura o gli effetti avversi causati dalla contaminazione microbica che si verifica durante l'uso di un prodotto. I conservanti antimicrobici non sono inclusi nei prodotti liofilizzati ma, se giustificato, tenendo conto del periodo massimo di uso raccomandato dopo la ricostituzione, essi possono essere inclusi nel diluente per i prodotti liofilizzati mul-

tidose. Per le preparazioni liquide a dose singola, l'aggiunta di conservanti antimicrobici non è generalmente accettabile ma può essere accettabile per esempio quando lo stesso prodotto è ripartito in recipienti a dose singola e multidose e per l'uso in specie non destinate ad essere utilizzate come alimenti. Nel caso di preparazioni liquide multidose si deve valutare la necessità di aggiungere un conservante antimicrobico in funzione della possibilità di contaminazione durante l'utilizzazione e il periodo massimo di utilizzo dopo l'apertura del recipiente.

Nel corso della fase di sviluppo si deve dimostrare all'Autorità competente che il conservante antimicrobico è efficace durante tutto il periodo di validità.

Valutare l'efficacia del conservante antimicrobico come descritto nel capitolo 5.1.3; nel caso di una preparazione multidose prelevare campioni anche per controllare l'effetto del conservante antimicrobico durante il periodo di validità dopo l'apertura. Se non possono essere rispettati né i criteri A e né quelli B, nei casi giustificati possono essere applicati ai sierimmuni per uso veterinario i criteri seguenti: batteri, nessun aumento a 24 h e a 7 giorni, riduzione di 3 log a 14 giorni, nessun aumento a 28 giorni; funghi, nessun aumento a 14 giorni e a 28 giorni.

L'aggiunta di antibiotici come conservanti antimicrobici non è accettabile.

Salvo indicazione contraria nella monografia, ripartire il lotto finale in maniera aseptica in recipienti sterili a chiusura ermetica che sono poi chiusi per escludere qualsiasi contaminazione.

La preparazione può essere liofilizzata.

Controlli in corso di fabbricazione (in-process). Effettuare saggi appropriati nel corso della fabbricazione, per esempio su campioni provenienti da prelievi prima della miscelazione per formare un lotto.

SAGGI SU LOTTO

I saggi necessari a dimostrare l'idoneità di un lotto di prodotto sono variabili e dipendono da un certo numero di fattori compreso il metodo dettagliato di produzione. I saggi devono essere effettuati dal produttore su un particolare prodotto e sono scelti in accordo con l'Autorità competente. Se un prodotto è trattato mediante una procedura convalidata per l'inattivazione dei micoplasmi, il saggio per i micoplasmi può essere omesso sul prodotto previo accordo dell'Autorità competente.

Può essere rilasciato per l'uso solo un lotto che soddisfa ciascuno dei principali requisiti riportati nella sezione Identificazione, Saggi e Attività e/o nelle pertinenti specifiche monografie. Previo accordo con l'Autorità competente, alcuni saggi possono essere omessi quando i saggi in processo danno una garanzia uguale o superiore a quella che il lotto dovrebbe soddisfare o quando sono stati effettuati saggi alternativi convalidati rispetto al metodo della Farmacopea.

Alcuni saggi, per es. quelli per i conservanti antimicrobici, per le proteine estranee e per l'albumina, possono essere effettuati dal produttore sul lotto finale anziché sul lotto, i lotti o i sotto-lotti di prodotto finito preparati da esso. In alcune circostanze, per es. quando le raccolte sono effettuate in sacche per plasmafesi e ciascuna di esse è essenzialmente un lotto, possono essere sottoposte a saggio miscele di campioni, previo accordo con l'Autorità competente.

E' ammesso che, in accordo con le Prescrizioni generali (sezione 1.1.1. Generalità), per un dato sierimmune l'applicazione di routine del saggio di innocuità possa non essere richiesta dall'Autorità competente, nell'interesse del benessere dell'animale, se è stato prodotto un numero sufficiente di lotti consecutivi ed è stato stabilito che questi soddisfano al saggio, dimostrando così la consistenza del processo di produzione. Il numero di lotti consecutivi da sottoporre a saggio dipende da un certo numero di fattori come il tipo di sierimmune, la frequenza della produzione dei lotti e l'esperienza acquisita con il sierimmune durante l'esecuzione dei saggi di innocuità nel corso della fase di sviluppo e l'applicazione di tale saggio su ciascun lotto. Senza pregiudicare la decisione dell'Autorità competente alla luce delle informazioni disponibili per un dato sierimmune, per la maggior parte dei prodotti il controllo su 10 lotti consecutivi è generalmente sufficiente. Per i prodotti che hanno un rischio intrinseco rispetto all'innocuità, può essere necessario continuare ad effettuare il saggio di innocuità su ciascun lotto.

Saggi sugli animali. In accordo con le disposizioni della *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes*, i saggi devono essere effettuati in modo tale da utilizzare il numero minimo di animali e causare il minimo dolore, la minima sofferenza, distress e danno prolungato. I criteri per la valutazione dei saggi nelle monografie devono essere applicati alla luce di quanto precedentemente detto. Per esempio, se è indicato che un animale è considerato positivo, infetto ecc. quando si verificano i segni clinici tipici, appena si ottiene un'indicazione sufficiente di un risultato positivo l'animale in

questione dovrebbe essere sacrificato o trattato in maniera appropriata per evitare ogni inutile sofferenza. In accordo con le Prescrizioni Generali possono essere utilizzati metodi di saggio alternativi per dimostrare la conformità con la monografia e l'uso di questi saggi è particolarmente incoraggiato quando questo comporta la sostituzione o la diminuzione dell'utilizzo di animali o la diminuzione delle loro sofferenze.

pH (2.2.3). Il pH dei sierimmuni grezzi o purificati deve essere compreso nei limiti approvati per i prodotti.

Formaldeide. Se la formaldeide è utilizzata per la produzione del sierimmune, effettuare un saggio per evidenziare la formaldeide libera come prescritto nella sezione Saggi.

Altri agenti inattivanti. Quando è utilizzato un altro procedimento di inattivazione, effettuare saggi appropriati per dimostrare che l'agente inattivante è stato eliminato o ridotto ad un livello residuale e accettabile.

Saggio di attività su (ciascun) lotto. Se esiste una monografia specifica per il prodotto, il saggio descritto in Attività non è effettuato necessariamente come saggio di routine dei lotti di sierimmune. Il tipo di saggio di attività su lotto da effettuare dipenderà dalle indicazioni dichiarate per il prodotto. Se possibile devono essere utilizzati saggi *in vitro*. Il tipo di saggio richiesto può comprendere la determinazione degli anticorpi contro specifici microrganismi infettivi, la determinazione del tipo di anticorpi (per es. neutralizzante o opsonizzante). Tutti i saggi devono essere convalidati. I criteri di accettazione devono essere fissati in base al lotto che ha dimostrato di soddisfare i requisiti specificati nella sezione Attività e che hanno dimostrato di aver un'efficacia soddisfacente in accordo alle indicazioni dichiarate per il prodotto.

Immunoglobuline totali. Effettuare un saggio per determinare la quantità di immunoglobuline totali e/o di gammaglobuline totali e/o delle classi di immunoglobuline specifiche. I risultati ottenuti devono essere compresi nei limiti fissati per il prodotto e in accordo con l'Autorità competente. La concentrazione di immunoglobuline nel lotto non è superiore a quella la cui innocuità è stata dimostrata nel corso degli studi di innocuità e, a meno che il saggio di attività su lotto non copra in maniera specifica tutte le immunoglobuline appropriate, la concentrazione di immunoglobuline nel lotto non è inferiore a quella del (dei) lotto (lotti) la cui efficacia è stata dimostrata nel corso degli studi di efficacia.

Proteine totali. Per i prodotti le cui indicazioni dichiarate sono correlate al contenuto di proteine, così come

si chiede di dimostrare che il contenuto nel lotto non è superiore al limite superiore indicato, si deve dimostrare che il contenuto di proteine totali nel lotto non è inferiore a quello del (dei) lotto (i) la cui efficacia è stata dimostrata nel corso degli studi di efficacia.

Agenti estranei. Oltre al saggio descritto nella sezione Saggi, possono essere richiesti saggi specifici in funzione della natura della preparazione, il suo rischio di contaminazione e l'uso del prodotto. In particolare, possono essere richiesti saggi specifici per gli agenti patogeni potenziali importanti se il donatore e il ricevente sono della stessa specie e se questi agenti non possono essere rivelati con facilità mediante il saggio generale descritto nella sezione Saggi.

Acqua. Nei casi appropriati, verificare il procedimento di liofilizzazione mediante la determinazione dell'acqua e dimostrare che è compresa nei limiti fissati per il prodotto.

IDENTIFICAZIONE

L'identità del prodotto è stabilita mediante saggi immunologici e, se necessario, mediante la determinazione dell'attività biologica. Il saggio di attività può anche servire per l'identificazione.

SAGGI

I requisiti riportati di seguito si applicano ai sierimmuni liquidi e ai sierimmuni liofilizzati ricostituiti.

Proteine estrane. Quando sono esaminati mediante saggi di precipitazione con antisieri specifici, i sierimmuni devono dimostrare di essere costituiti esclusivamente dalle proteine delle specie animali usate per la preparazione.

Albumina. I sierimmuni purificati soddisfano al saggio per le albumine. Salvo indicazione diversa nella monografia, l'esame per elettroforesi dei sierimmuni purificati deve rivelare solo tracce di albumina e il contenuto di albumina della preparazione ricostituita, in ogni caso non deve essere superiore a 30 g/l se del caso.

Proteine totali. Diluire la preparazione da esaminare con una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere una soluzione contenente circa 15 mg di proteine in 2 ml. A 2 ml di questa soluzione in una provetta da centrifuga a fondo tondo aggiungere 2 ml di una soluzione (75 g/l) di *sodio molibdato R* e 2 ml di una miscela di 1 volume di *acido solforico esente da azoto R* e 30 volumi di *acqua R*. Agitare, centrifugare per 5

min, eliminare il liquido surnatante e lasciare sgocciolare la provetta capovolta su carta da filtro. Determinare l'azoto nel residuo mediante mineralizzazione con acido solforico (2.5.9) e calcolare il contenuto di proteine moltiplicando per 6,25. Il risultato ottenuto non deve essere superiore al limite più alto indicato in etichetta.

Conservante antimicrobico. Determinare la quantità di conservante antimicrobico mediante un appropriato metodo fisico-chimico. La quantità non deve essere inferiore alla quantità minima che si è dimostrata efficace e non deve essere superiore al 115 per cento della quantità indicata in etichetta.

Formaldeide (2.4.18). Quando nella preparazione è utilizzata la formaldeide, la concentrazione libera non deve essere superiore a 0,5 g/l, salvo che non sia stato dimostrato che una quantità più alta è innocua.

Sterilità (2.6.1). I sierimmuni per uso veterinario soddisfano al saggio di sterilità. Quando il volume di liquido in un recipiente è superiore a 100 ml, utilizzare se possibile il metodo di filtrazione su membrana. Se si utilizza questo metodo, incubare i terreni di coltura per almeno 14 giorni. Quando il metodo di filtrazione su membrana non può essere impiegato, può essere utilizzato il metodo di inoculazione diretta. Se il volume di liquido in ciascun recipiente è almeno 20 ml, il volume minimo da utilizzare per ciascun terreno di coltura è il 10 per cento del contenuto del contenitore o 5 ml se inferiore. Il numero appropriato di unità da esaminare (2.6.1) è l'1 per cento del lotto, con un minimo di 4 ed un massimo di 10.

Micoplasmi (2.6.7). I sierimmuni per uso veterinario soddisfano il saggio per i micoplasmi.

Innocuità. Effettuare il saggio utilizzando una specie per la quale è raccomandato il prodotto. A meno che un sovradosaggio sia controindicato in etichetta, somministrare attraverso la via di somministrazione raccomandata, il doppio della dose massima raccomandata per la specie usata.

Se vi è un'avvertenza alla somministrazione di un sovradosaggio, somministrare una dose singola. Per i prodotti da utilizzare nei mammiferi, usare 2 animali dell'età minima raccomandata per il prodotto. Per i prodotti aviari usare almeno 10 volatili dell'età minima raccomandata. I volatili sono mantenuti in osservazione per 21 giorni; le altre specie sono osservate per 14 giorni. Non si deve verificare alcuna reazione anormale locale o sistemica

Agenti estranei. Effettuare il saggio per gli agenti estranei mediante inoculazione di colture cellulari sensibili ai patogeni delle specie degli animali donatori e nelle cellule sensibili ai patogeni di ciascuna delle specie bersaglio riceventi indicate in etichetta (2.6.25). Osservare le cellule per 14 giorni. Durante questo tempo, effettuare almeno un passaggio. Le cellule sono controllate ogni giorno per evidenziare l'effetto citopatico e sono controllate alla fine dei 14 giorni per verificare la presenza di agenti emoadsorbenti. Il lotto soddisfa al saggio se non si evidenzia la presenza di un agente estraneo.

Per i sierimmuni di origine aviaria, se un saggio in coltura cellulare non è sufficiente a rivelare i potenziali agenti estranei, effettuare un saggio mediante inoculazione in uova embrionate provenienti da allevamenti esenti da patogeni specificati (5.2.2.) o mediante alcuni altri metodi appropriati (per es. reazione a catena della polimerasi (PCR)).

ATTIVITA'

Effettuare un appropriato saggio di attività.

Se esiste una monografia specifica, effettuare il dosaggio biologico prescritto nella monografia ed esprimere il risultato in Unità Internazionali per millilitro, quando esse esistono.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce, a una temperatura di 5 ± 3 °C. Le preparazioni liquide non devono essere congelate.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- che la preparazione è per uso veterinario,
- se la preparazione è purificata o meno,
- il numero minimo di Unità Internazionali per millilitro, se esistono,
- il volume della preparazione nel recipiente,
- le indicazioni del prodotto,

- le istruzioni per l'uso compreso l'intervallo tra le somministrazioni e il numero massimo di somministrazioni raccomandate,
- le specie bersaglio riceventi alle quali il sierimmune è destinato,
- la dose raccomandata per le differenti specie,
- la(e) via(e) di somministrazione,
- il nome della specie degli animali donatori,
- la quantità massima di proteine totali,
- il nome e la quantità di ogni conservante antimicrobico o ogni altra sostanza aggiunta al sierimmune,
- qualsiasi controindicazione all'uso del sierimmune, comprese le avvertenze necessarie relative ai pericoli della somministrazione in sovradosaggio,
- per i sierimmuni liofilizzati:
 - il nome o la composizione e il volume del liquido da aggiungere per la ricostituzione,
 - il periodo di tempo entro il quale il sierimmune deve essere utilizzato dopo la ricostituzione.

2034

SOSTANZE PER USO FARMACEUTICO

Corpora ad usum pharmaceuticum

DEFINIZIONE

Le sostanze per uso farmaceutico sono sostanze organiche o inorganiche, utilizzate come sostanze attive o eccipienti per la produzione di prodotti medicinali per uso umano o veterinario. Possono essere ottenute da fonti naturali o prodotte per estrazione da materie prime, per fermentazione o per sintesi.

Questa monografia generale non si applica alle droghe vegetali, alle droghe vegetali per preparazioni omeopatiche, alle preparazioni a base di droghe vegetali, agli estratti, alle tinture madri per preparazioni omeopatiche che sono oggetto di monografie generali separate (*Droghe vegetali (1433)*, *Droghe vegetali per preparazioni omeopatiche (2045)*, *Preparazioni a base di droghe vegetali (1434)*, *Estratti (0765)*, *Tinture madri per preparazioni omeopatiche (2029)*).

Non si applica alle materie prime per preparazioni omeopatiche tranne quando nella parte non-omeopatica della Farmacopea è presente la singola monografia per la sostanza in questione.

Quando una sostanza per uso farmaceutico non descritta in una singola monografia della Farmacopea viene usata in un prodotto medicinale preparato per le speciali esigenze di singoli pazienti, l'osservanza di quanto previsto dalle specifiche della presente monografia generale viene decisa alla luce di una valutazione di rischio che prende in considerazione sia il tipo di qualità disponibile della sostanza che il suo uso previsto.

Quando i prodotti medicinali sono fabbricati utilizzando sostanze per uso farmaceutico di origine umana o animale, si applicano i requisiti del capitolo 5.1.7. *Sicurezza virale*.

Le sostanze per uso farmaceutico possono essere utilizzate sia come tali che come materie prime di una successiva formulazione per la preparazione di prodotti medicinali. In funzione del tipo di formulazione alcune sostanze possono essere usate sia come sostanze attive che come eccipienti. Le sostanze solide possono essere compattate, rivestite, granulate, polverizzate fino ad una certa finezza o possono essere sottoposte ad altri trattamenti.

Una monografia è applicabile ad una sostanza trattata con un eccipiente solo quando tale trattamento viene menzionato nella sezione Definizione della monografia.

Sostanza per uso farmaceutico di qualità speciale. Salvo indicazione diversa o limitazione specifica nelle singole monografie, una sostanza per uso farmaceutico è destinata all'uso umano e veterinario, ed è di qualità appropriata per la produzione di tutte le forme farmaceutiche nelle quali può essere utilizzata.

Polimorfismo. Le singole monografie generalmente non specificano forme cristalline o amorfe, a meno che non sia influenzata la biodisponibilità. Tutte le forme di una sostanza per uso farmaceutico soddisfano ai requisiti della monografia, se non diversamente indicato.

PRODUZIONE

Le sostanze per uso farmaceutico sono prodotte mediante procedure destinate ad assicurare una qualità riproducibile, e soddisfano ai requisiti della singola monografia o alle specifiche approvate.

Per il controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico si applicano le disposizioni del capitolo generale 5.10.

Che sia o no specificato nella singola monografia che la sostanza per uso farmaceutico:

- è una proteina ricombinante o un'altra sostanza ottenuta in seguito a modificazione genetica, la sostanza soddisfa, se del caso, anche ai requisiti della monografia generale sui *Prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante (0784)*;
- è ottenuta da animali suscettibili alle encefalopatie spongiformi trasmissibili diverse dall'infezione sperimentale, la sostanza soddisfa, se del caso, anche ai requisiti della monografia generale sui *Prodotti aventi il rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali (1483)*;
- è una sostanza ottenuta mediante un processo di fermentazione, in cui i microrganismi interessati siano o no modificati mediante procedimenti tradizionali o mediante la tecnologia del DNA ricombinante (rDNA), la sostanza soddisfa, se del caso, ai requisiti della monografia generale *Prodotti di fermentazione (1468)*.

Se durante la produzione sono utilizzati solventi, essi devono essere di qualità appropriata; anche la loro tossicità e il loro livello residuo (5.4) sono da prendere in considerazione. Se durante la produzione è usata acqua, essa deve essere di qualità appropriata.

Se le sostanze sono prodotte o trattate per ottenere una certa forma o qualità, quella forma specifica o qualità della sostanza soddisfa ai requisiti della monografia. Alcuni saggi correlati con la funzionalità possono essere descritti per il controllo di proprietà suscettibili di influenzare l'idoneità della sostanza e conseguentemente le proprietà delle forme farmaceutiche preparate da essa.

Le *sostanze polverizzate* possono essere trattate in modo da ottenere un certo grado di finezza (2.9.35).

Le *sostanze compattate* sono trattate al fine di aumentare le dimensioni delle particelle, di ottenere particelle di una forma specifica e/o di aumentare la massa della sostanza per unità di volume.

Le *sostanze attive rivestite* sono costituite da particelle della sostanza attiva rivestite con uno o più eccipienti appropriati.

Le *sostanze attive granulate* sono particelle con dimensione e/o forma specifica prodotte mediante granulazione a partire direttamente dalla sostanza attiva o mediante l'uso di uno o più appropriati eccipienti. Se le sostanze sono trattate con eccipienti, questi soddisfano ai requisiti della loro monografia o, qualora non esista tale monografia, alle specifiche approvate.

Quando le sostanze attive sono state trattate con eccipienti per produrre, ad esempio, sostanze rivestite o granulate, il trattamento deve essere fatto nel rispetto

della buona pratica di fabbricazione (GMP) e le sostanze trattate sono considerate come intermedi nella fabbricazione di un prodotto medicinale.

CARATTERI

Le indicazioni che figurano nella sezione Caratteri (per es. indicazioni circa la solubilità o una temperatura di decomposizione) non devono essere interpretate in senso stretto, e non costituiscono specifiche. Esse sono riportate come informazione.

Quando una sostanza può presentare polimorfismo, questo può essere segnalato nei Caratteri al fine di attirare l'attenzione dell'utilizzatore su questa caratteristica di cui si deve tener conto durante la formulazione di una preparazione.

IDENTIFICAZIONE

Nel caso in cui la sezione Identificazione di una singola monografia contenga *Prima identificazione* e *Seconda identificazione*, il saggio o i saggi che costituiscono la *Prima identificazione* possono essere usati in qualunque circostanza. Il saggio o i saggi che costituiscono la *Seconda identificazione* possono essere usati a condizione che si dimostri che la sostanza provenga da un lotto certificato "conforme" a tutte le specifiche della monografia.

SAGGI

Polimorfismo (5.9). Se la natura di una forma cristallina o amorfa impone certe restrizioni per essere usata nelle preparazioni, la natura della specifica forma cristallina o amorfa viene identificata, la sua morfologia è adeguatamente controllata e la sua identità è riportata in etichetta.

Sostanze correlate. Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le impurezze organiche presenti nelle sostanze attive devono essere dichiarate, identificate ogni volta che sia possibile, e qualificate così come indicato nella Tabella 2034.-1.

Particolari limiti possono essere applicati per quelle impurezze che hanno una non comune attività, o che danno luogo ad effetti farmacologici inaspettati o ad effetti tossici.

Qualora una singola monografia non preveda un adeguato controllo per una nuova impurezza, deve essere sviluppato un saggio adeguato per tale controllo ed incluso nelle specifiche della sostanza.

Questi requisiti non si applicano ai prodotti biologici e biotecnologici, ai peptidi, agli oligonucleotidi, ai prodotti radiofarmaceutici, ai prodotti di fermentazione e ai prodotti semisintetici da questi derivati, ai prodotti grezzi di origine animale o vegetale, o ai prodotti a base di erbe.

Tabella 2034.-1. Dichiarazione, Identificazione e Qualificazione delle impurezze organiche nelle sostanze attive.

Uso	Dose massima giornaliera	Soglia di dichiarazione	Soglia di identificazione	Soglia di qualificazione
Uso umano o uso umano e veterinario	≤ 2 g/giorno	> 0,05 per cento	> 0,10 per cento o assunzione quotidiana > 1,0 mg (la più bassa delle due)	> 0,15 per cento o assunzione quotidiana > 1,0 mg (la più bassa delle due)
Uso umano o uso umano e veterinario	> 2 g/giorno	> 0,03 per cento	> 0,05 per cento	> 0,05 per cento
Uso solo veterinario	Non applicabile	> 0,1 per cento	> 0,2 per cento	> 0,5 per cento

Solventi residui. Il contenuto di solventi residui è limitato secondo i principi definiti nel capitolo generale (5.4), usando il metodo generale (2.4.24) o altri metodi appropriati.

Nel caso in cui viene effettuata la determinazione quantitativa di un solvente residuo ma non viene eseguito un saggio per la perdita all'essiccamento, il contenuto di solvente residuo deve essere preso in considerazione per il calcolo del contenuto della sostanza attiva, del potere rotatorio specifico e della assorbanza specifica.

Qualità microbiologica. Le singole monografie danno i criteri di accettabilità della qualità microbiologica dove tale controllo è necessario. La tabella 5.1.4-2. *Criteri di accettabilità della qualità microbiologica delle sostanze per uso farmaceutico non-sterili* nel capitolo 5.1.4. *Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche* fornisce raccomandazioni sulla qualità microbiologica che sono di rilevanza generale per le sostanze soggette a contaminazione microbica. A seconda della natura delle sostanze e del loro uso previsto, possono essere giustificati differenti criteri di accettazione.

Sterilità (2.6.1). Le sostanze per uso farmaceutico destinate alla preparazione di forme farmaceutiche sterili senza essere sottoposte ad un ulteriore appropriato procedimento di sterilizzazione, o presentate come sostanze sterili, soddisfano al saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Le sostanze per uso farmaceutico presentate come sostanze esenti da endotossine batteriche soddisfano al saggio per le endotossine batteriche. Il limite e il metodo di saggio da utilizzare (se non si applica il metodo di gelificazione A) sono indicati nella specifica monografia. Il limite è calcolato secondo le *Linee guida del Saggio per le Endotossine batteriche (2.6.14)*, a meno che un limite inferiore sia giustificato dai risultati ottenuti con i lotti di produzione, o sia richiesto dal-

l'autorità competente. Se è prescritto un saggio per le endotossine batteriche, non è richiesto un saggio per i pirogeni.

Pirogeni (2.6.8). Le sostanze per uso farmaceutico per le quali è giustificato l'utilizzo del saggio per i pirogeni al posto del saggio per le endotossine batteriche e che sono presentate come sostanze esenti da pirogeni, soddisfano al saggio per i pirogeni. Il limite e il metodo di saggio da utilizzare sono indicati nella specifica monografia o approvati dall'autorità competente. Il saggio per le endotossine batteriche, può sostituire quello per i pirogeni sulla base di un appropriato saggio di convalida tra il saggio per le endotossine batteriche e quello per i pirogeni.

Proprietà supplementari. Il controllo di proprietà particolari (per es. le caratteristiche fisiche, le proprietà correlate con la funzionalità) può essere necessario per alcuni procedimenti di fabbricazione o per alcune formulazioni. Qualità particolari di una sostanza (come sostanza sterile, esente da endotossine, apirogena ecc.) possono essere ottenute per la produzione di preparazioni per uso parenterale o di altre forme farmaceutiche, e i requisiti appropriati possono essere specificati nella singola monografia.

DOSAGGIO

Se non diversamente giustificato ed autorizzato, il titolo delle sostanze per uso farmaceutico viene determinato mediante metodi appropriati.

ETICHETTE

In generale, l'etichetta è disciplinata da accordi internazionali e da regolamenti sovranazionali e nazionali. Le indicazioni che figurano sotto la voce Etichette non

sono dunque complete e, inoltre, sono obbligatorie ai fini della Farmacopea solo le specifiche necessarie a dimostrare la conformità o meno ai requisiti della monografia. Tutte le altre informazioni sono indicate a titolo di raccomandazione. Quando nella Farmacopea è usato il termine "etichetta", le indicazioni possono apparire sul contenitore, sulla confezione, su un foglietto che accompagna la confezione o sul certificato di analisi allegato al prodotto come deciso dall'autorità competente.

Se del caso, l'etichetta prevede le indicazioni che la sostanza è:

- destinata ad un uso specifico,
- di una forma cristallina distinta,
- di uno specifico grado di finezza,
- compattata,
- rivestita,
- granulata,
- sterile,
- esente da endotossine batteriche,
- esente da pirogeni,
- contenente agenti di scorrimento.

Se del caso, l'etichetta riporta:

- il grado di idratazione,
- il nome e la concentrazione di ogni sostanza aggiunta (per esempio un conservante antimicrobico o un anti-ossidante).

Quando la sostanza attiva è stata lavorata con aggiunta di un eccipiente o di eccipienti, l'etichetta riporta gli eccipienti utilizzati ed il contenuto della sostanza attiva e degli eccipienti.

0153

VACCINI PER USO UMANO

Vaccina ad usum humanum

DEFINIZIONE

I vaccini per uso umano sono preparazioni contenenti antigeni capaci di indurre una immunità attiva e specifica nell'uomo nei confronti di un agente infettante o di una tossina o di un antigene elaborato da esso. Le risposte immunitarie comprendono l'induzione dei

meccanismi innati ed adattativi (cellulari, umorali) del sistema immunitario. Deve essere dimostrato che i vaccini per uso umano hanno un'attività immunogena ed un'innocuità accettabili nell'uomo secondo la scheda di somministrazione prevista.

I vaccini per uso umano possono contenere: organismi interi (batteri, virus o parassiti) inattivati mediante mezzi chimici o fisici che mantengono appropriate proprietà immunogene; organismi interi vivi che sono normalmente non virulenti o che sono stati trattati per attenuare la loro virulenza ma mantengono adeguate proprietà immunogene; antigeni estratti da microrganismi o secreti da essi oppure prodotti mediante ingegneria genetica o sintesi chimica. Gli antigeni possono essere usati nel loro stato nativo o possono essere detossificati mediante mezzi chimici o fisici e possono essere aggregati, polimerizzati o coniugati ad un supporto per aumentare la loro immunogenicità.

I vaccini possono contenere un adiuvante. Quando l'antigene è adsorbito su un adiuvante minerale il vaccino è definito vaccino «adsorbito».

La terminologia usata nelle monografie sui vaccini per uso umano è definita nel capitolo 5.2.1.

I *vaccini batterici contenenti cellule intere* sono sospensioni con diverso grado di opacità in liquidi incolori o quasi incolori o possono essere liofilizzati. Essi possono essere adsorbiti. La concentrazione dei batteri vivi o inattivati è espressa in termini di Unità Internazionali di Opacità o, se del caso, è determinata mediante conta cellulare diretta o, per i batteri vivi, mediante la conta vitale.

I *vaccini batterici contenenti componenti batteriche* sono sospensioni o prodotti liofilizzati. Possono essere adsorbiti. Il contenuto in antigene è determinato mediante un dosaggio appropriato convalidato.

Le *anatossine batteriche* sono preparate dalle tossine diminuendo la loro tossicità ad un livello non rilevabile oppure eliminandola completamente mediante procedure chimiche o fisiche senza distruggere la loro proprietà immunogena. Le anatossine sono ottenute da ceppi selezionati di microrganismi. Il metodo di produzione deve essere tale che l'anatossina non si converta di nuovo in tossina. Le anatossine sono purificate. La purificazione è effettuata prima e/o dopo la detossificazione. Le anatossine possono essere adsorbite.

I *vaccini virali* sono preparati da virus coltivati in animali, in uova embrionate, in colture cellulari appropriate o in tessuti idonei o mediante coltura di cellule modificate mediante ingegneria genetica. I vaccini virali sono liquidi che differiscono per l'opacità a seconda del tipo di preparazione o possono essere liofi-

lizzati. Essi possono essere adsorbiti. Le preparazioni liquide e le preparazioni liofilizzate dopo la ricostituzione possono essere colorate se nei terreni di coltura è stato usato un indicatore di pH come il rosso fenolo.

I *vaccini contenenti antigeni di sintesi* sono generalmente liquidi limpidi o incolori. La concentrazione dei componenti è generalmente espressa in termini di contenuto in antigene specifico.

I *vaccini in associazione* sono preparazioni di più componenti formulati in maniera tale che più antigeni sono somministrati simultaneamente. Le differenti componenti antigeniche sono destinate a proteggere nei confronti di differenti ceppi o tipi dello stesso organismo e/o nei confronti di differenti organismi. Un vaccino in associazione può essere fornito dal fabbricante sia come singola preparazione liquida o liofilizzata sia sotto forma di costituenti diversi con le indicazioni necessarie per la miscelazione prima dell'uso. Se non esiste una monografia che tratta di una particolare combinazione, il vaccino soddisfa alle monografie di ciascun singolo componente, con ogni necessaria modifica approvata dall'Autorità competente.

I *vaccini adsorbiti* sono sospensioni e possono formare un sedimento sul fondo del recipiente.

PRODUZIONE

Disposizioni generali. Il metodo di produzione per un dato prodotto deve aver dimostrato di dare, in maniera costante, lotti confrontabili con quello per il quale è stata dimostrata l'efficacia clinica, l'immunogenicità e la sicurezza nell'uomo. Le specifiche del prodotto compresi i saggi in corso di processo devono essere definiti. I requisiti per la produzione compresi i controlli durante il processo sono indicati nelle singole monografie. In casi giustificati ed autorizzati alcuni saggi possono essere omessi quando si può dimostrare, per esempio mediante studi di convalida, che il processo di produzione soddisfa al saggio in maniera riproducibile.

Salvo eccezione giustificata ed autorizzata, i vaccini sono prodotti usando un sistema di lotto di semenza. I metodi di preparazione sono concepiti in modo da mantenere adeguate proprietà immunogene, per rendere la preparazione innocua e per prevenire la contaminazione da parte di agenti estranei.

Quando i vaccini per uso umano sono prodotti usando materiali di origine umana o animale, i requisiti generali del capitolo 5.1.7. *Sicurezza virale* si applicano insieme con i requisiti più specifici relativi alla sicurezza virale che compaiono in questa monografia e nel capitolo 5.2.2. *Allevamenti di polli esenti da patogeni*

specificati per la produzione e il controllo di qualità dei vaccini, 5.2.3. *Substrati cellulari per la produzione di vaccini per uso umano*, 2.6.16. *Saggio per gli agenti estranei nei vaccini virali per uso umano* e nelle monografie specifiche.

Salvo eccezione giustificata ed autorizzata, nella produzione di un lotto finale di vaccino, il numero di passaggi di un virus o il numero di sottocolture di un batterio a partire dal lotto di semenza primario non deve essere superiore a quello usato per la produzione del vaccino che ha dimostrato, negli studi clinici, di essere soddisfacente rispetto all'innocuità e all'efficacia o all'immunogenicità.

I vaccini devono essere il più possibile esenti da ingredienti noti per causare reazioni tossiche, allergiche o altre reazioni indesiderate nell'uomo. Possono essere incorporati additivi appropriati come stabilizzanti ed adiuvanti. La penicillina e la streptomina non si usano in nessuno stadio della produzione e non si aggiungono al prodotto finale; tuttavia i lotti di semenza primari preparati con terreni di coltura contenenti penicillina o streptomina, quando giustificato ed autorizzato, possono essere usati per la produzione.

La consistenza della produzione è un aspetto importante della produzione di un vaccino. Le monografie relative a vaccini per uso umano riportano dei limiti per i diversi saggi effettuati durante la produzione o sul lotto finale. Questi limiti possono essere riportati come valori massimi, valori minimi o tolleranza minima e massima nell'intorno di un dato valore. Sebbene sia richiesta la rispondenza a questi limiti, essa non è necessariamente sufficiente ad assicurare la consistenza della produzione di un dato vaccino. Per i saggi di una certa rilevanza il produttore deve pertanto definire per ogni prodotto un'azione adeguata o uno o più limiti per il rilascio da applicarsi in relazione ai risultati riscontrati per i lotti saggiati clinicamente e per quelli usati per dimostrare la consistenza della produzione. Questi limiti possono essere successivamente perfezionati su scala statistica alla luce dei dati di produzione.

Substrati per la propagazione. I substrati per la propagazione soddisfano ai pertinenti requisiti della Farmacopea (5.2.2, 5.2.3) o in mancanza di questi requisiti a quelli dell'Autorità competente. La lavorazione delle banche cellulari e delle colture cellulari successive si effettua in condizioni asettiche in un'area dove non sono manipolate altre cellule. Il siero e la tripsina usati nella preparazione delle sospensioni cellulari devono essere esenti da agenti estranei.

Lotti di semenza/banca di cellule. Il lotto di semenza primario o la banca di cellule sono identificati mediante documentazione storica che comprende informazioni sulla loro origine e la loro manipolazione successiva. Si devono prendere misure appropriate per assicurare che nessun agente estraneo e nessun'altra sostanza indesiderabile sia presente in un lotto di semenza primario o di lavoro o in una banca di cellule.

Terreni di coltura. I terreni di coltura sono il più possibile esenti da ingredienti noti per causare reazioni tossiche, allergiche o altre reazioni indesiderate nell'uomo; se la presenza di questi ingredienti è necessaria, si deve dimostrare che la quantità presente nel lotto finale è ridotta ad un livello tale da rendere innocuo il prodotto. Un siero animale (ma non umano) approvato può essere usato nel terreno di crescita delle colture cellulari ma il terreno usato per il mantenimento della crescita durante la moltiplicazione virale non deve contenere il siero, salvo indicazione diversa. I terreni di coltura cellulare possono contenere un indicatore di pH come il rosso fenolo e gli antibiotici approvati alla minima concentrazione efficace benché sia preferibile avere, durante la produzione, un terreno di coltura esente da antibiotici.

Propagazione e raccolta. Le colture di semenza sono propagate e raccolte in condizioni definite. La purezza della raccolta si verifica mediante saggi appropriati come definito nella monografia.

Cellule di controllo. Per i vaccini prodotti in colture cellulari, si mantengono delle cellule di controllo e si sottopongono a saggio come prescritto. Per fornire un controllo valido, queste cellule devono essere mantenute in condizioni che sono rigorosamente identiche a quelle usate per la produzione delle colture cellulari, compreso l'uso degli stessi lotti di terreni di coltura e i cambiamenti dei terreni.

Uova di controllo. Per i vaccini vivi prodotti su uova, le uova sono incubate e sottoposte a saggio come prescritto nella monografia.

Purificazione. Se del caso, si applica una procedura di purificazione convalidata.

Inattivazione. I vaccini inattivati sono prodotti usando un processo di inattivazione convalidato, di cui sia stata dimostrata l'efficacia e la riproducibilità. Se sono stati individuati contaminanti potenziali di una raccolta, per esempio nei vaccini prodotti in uova provenienti da allevamenti sani non EOPS, il processo di inattivazione deve essere anche convalidato rispetto ad una gamma di modelli di agenti estranei rappresentativi di potenziali agenti estranei. Si effettua un saggio per veri-

ficare l'efficacia del processo di inattivazione il più presto possibile dopo tale processo, salvo eccezione giustificata ed autorizzata.

Sospensione madre finale. La sospensione madre finale si prepara mescolando, in condizioni asettiche, gli ingredienti del vaccino. Nel caso di vaccini non liquidi per somministrazione attraverso una via diversa da quella parenterale, la sospensione madre finale è preparata mescolando le diverse componenti del vaccino nelle condizioni appropriate.

Adiuvanti. Uno o più adiuvanti possono essere inclusi nella formulazione di un vaccino per potenziarlo e/o per modulare la risposta immunitaria all'(agli) antigene(i). Questi adiuvanti possono essere compresi nella formulazione del vaccino finale o possono essere presentati separatamente. Un controllo di qualità e una caratterizzazione appropriata del(degli) adiuvante(i), sono essenziali per una produzione riproducibile. Le specifiche di qualità sono stabilite per ciascun adiuvante, solo o combinate all'antigene (o agli antigeni).

Adsorbenti utilizzati come adiuvanti. I vaccini possono essere adsorbiti su alluminio idrossido, alluminio fosfato, calcio fosfato o altri adsorbenti appropriati. Gli adsorbenti sono preparati in condizioni particolari che conferiscono la forma fisica e le proprietà adsorbenti appropriate. Se un adsorbente è utilizzato come adiuvante ed è generato *in situ* nel corso della produzione del vaccino, sono stabilite delle specifiche di qualità per ciascun componente e per l'adsorbente generato nel vaccino. Le specifiche di qualità sono destinate a controllare in particolare:

- la composizione chimica qualitativa e quantitativa;
- la forma fisica e le proprietà adsorbenti associate, se del caso, in particolare se l'adiuvante è presente in qualità di adsorbente;
- purezza, compreso il contenuto di endotossine batteriche e la qualità microbiologica;
- ogni altro parametro ritenuto critico ai fini della funzionalità.

La stabilità di ciascun adiuvante, solo o in combinazione con l'antigene (i), soprattutto per quanto riguarda i parametri critici, è definita nel corso degli studi di sviluppo.

Conservanti antimicrobici. I conservanti antimicrobici sono usati per prevenire la spoliazione o gli effetti collaterali causati dalla contaminazione microbica durante l'uso del vaccino. I conservanti antimicrobici non sono inclusi nei prodotti liofilizzati. Per le preparazioni a dose singola l'aggiunta di conservanti antimicrobici non è generalmente accettabile. Per le preparazioni liquide

multidose, la necessità di una conservazione antimicrobica efficace è valutata considerando la probabile contaminazione durante l'uso e il periodo massimo raccomandato per l'uso dopo l'apertura del contenitore. Se viene utilizzato un conservante antimicrobico si deve dimostrare che non influisca con la sicurezza o l'efficacia del vaccino. L'aggiunta di antibiotici come conservanti antimicrobici non è normalmente accettabile.

Nel corso degli studi di sviluppo, deve essere dimostrata all'Autorità competente l'efficacia del conservante antimicrobico durante tutto il periodo di validità.

L'efficacia del conservante antimicrobico viene valutata come descritto nel capitolo 5.1.3. Se non sono soddisfatti i criteri A e B, in casi giustificati possono essere applicati ai vaccini per uso umano i criteri seguenti: batteri, nessun aumento a 24 h e a 7 giorni; riduzione di 3 log a 14 giorni, nessun aumento a 28 giorni; funghi, nessun aumento a 14 giorni e a 28 giorni.

Stabilità degli intermedi. Durante la produzione dei vaccini si ottengono degli intermedi a varie fasi e sono conservati, alcune volte, per lunghi periodi. Tali intermedi comprendono:

- lotti di semenza e banche di cellule,
- raccolte vive o inattivate,
- raccolte purificate che possono essere costituite da tossine, tossoidi, polisaccaridi, sospensioni batteriche o virali,
- antigeni purificati,
- antigeni adsorbiti,
- polisaccaridi coniugati,
- sospensione madre finale,
- vaccino nel contenitore finale chiuso e conservato ad una temperatura più bassa di quella usata negli studi di stabilità del prodotto finale e destinato ad essere rilasciato senza essere sottoposto di nuovo a dosaggio.

Ad eccezione di quelli che sono usati in un breve periodo di tempo, gli studi di stabilità sono effettuati su intermedi nelle previste condizioni di conservazione per stabilire la presunta entità della degradazione. Per la sospensione madre finale, gli studi di stabilità possono essere effettuati su campioni rappresentativi in condizioni equivalenti a quelle destinate ad essere usate per la conservazione. Per ciascun intermedio (eccetto i lotti di semenza e le banche di cellule), viene stabilito un periodo di validità applicabile alle previste condizioni di conservazione, se appropriato considerando gli studi di stabilità.

Lotto finale. Il lotto finale è preparato mediante ripartizione aseptica della sospensione madre finale in recipienti sterili ermeticamente chiusi che, dopo liofilizzazione se del caso, sono chiusi in modo da escludere qualsiasi contaminazione. Per i vaccini non liquidi da somministrare per via non parenterale, il lotto finale è preparato distribuendo in appropriate condizioni la sospensione madre finale in recipienti sterili, ermeticamente chiusi. Se giustificato ed autorizzato, alcuni saggi prescritti per il lotto finale possono essere effettuati sulla sospensione madre finale se è stato dimostrato che le successive operazioni di fabbricazione non influenzano la conformità.

Aspetto. Salvo eccezione giustificata ed autorizzata, ciascun contenitore (fiale, siringa, flacone) di ciascun lotto finale è ispezionato ad occhio nudo o meccanicamente per verificare se l'aspetto è accettabile.

Grado di adsorbimento. Salvo eccezione giustificata ed autorizzata, per un vaccino adsorbito, una specifica del grado di adsorbimento per il rilascio del lotto si stabilisce sulla base dei risultati ottenuti per i lotti usati nei saggi clinici. A partire dai dati di stabilità ricavati dal vaccino si deve dimostrare che alla fine del periodo di validità il grado di adsorbimento non sarà inferiore a quello dei lotti usati nei saggi clinici.

Stabilità. Si deve dimostrare, nel corso degli studi di sviluppo mediante studi di convalida, la conservazione dell'attività biologica del lotto finale durante tutto il periodo di validità; si valuta la diminuzione di attività biologica nelle condizioni di conservazione raccomandate ed un'eccessiva diminuzione, anche entro i limiti di una attività biologica accettabile, può indicare che il vaccino non è accettabile.

Data di scadenza. Salvo indicazione diversa, la data di scadenza è calcolata dall'inizio del dosaggio o dall'inizio del primo dosaggio per un vaccino combinato. Per i vaccini conservati a una temperatura più bassa di quella usata negli studi di stabilità e destinati ad essere rilasciati senza un nuovo dosaggio, la data di scadenza è calcolata dal momento in cui il vaccino è portato alla temperatura di conservazione indicata.

Se per un dato vaccino non è stato effettuato un dosaggio, la data di scadenza per il lotto finale è calcolata dalla data di un approvato saggio indicativo della stabilità o in mancanza di questo dalla data di liofilizzazione o dalla data di riempimento nei contenitori finali.

Per un vaccino combinato formulato in contenitori separati, la data di scadenza è quella del componente che scade per primo.

La data di scadenza è valida per i vaccini conservati nelle condizioni prescritte.

Saggi animali. In accordo con le indicazioni della *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes*, i saggi devono essere effettuati in modo tale da utilizzare il minimo numero di animali e causare il minimo dolore, sofferenza, distress o danno permanente.

I criteri di valutazione dei saggi nelle monografie devono essere applicati alla luce di queste considerazioni. Per esempio se si dimostra che un animale è positivo, infetto, ecc.. quando compaiono i segni clinici tipici o la morte o una precoce indicazione di un risultato positivo, l'animale in questione dovrebbe essere sacrificato o dovrebbe ricevere un adeguato trattamento per evitare ogni sofferenza inutile. In accordo con le Prescrizioni generali, possono essere usati metodi di saggio alternativi per dimostrare la conformità alle monografie e l'uso di questi saggi è particolarmente incoraggiato quando essi prevedono la sostituzione o la riduzione dell'uso degli animali o la riduzione della loro sofferenza.

SAGGI

I vaccini soddisfano ai saggi prescritti nella specifica monografia compresi, se del caso, quelli descritti di seguito.

pH (2.2.3). I vaccini liquidi, dopo la ricostituzione se del caso, soddisfano i limiti di pH approvati per la preparazione particolare.

Adiuvante. Se il vaccino contiene un adiuvante, si determina il contenuto che deve essere compreso nei limiti accettabili rispetto alla quantità prevista (vedere anche i saggi per l'alluminio e il calcio riportati di seguito).

Alluminio (2.5.13). Non più di 1,25 mg di alluminio (Al) per dose umana singola, salvo indicazione diversa, se nel vaccino è stato usato un adsorbente a base di alluminio.

Calcio (2.5.14). Non più di 1,3 mg di calcio (Ca) per dose umana singola, salvo indicazione diversa, se nel vaccino è stato usato un adsorbente a base di calcio.

Formaldeide libera (2.4.18). Non più di 0,2 g/l di formaldeide libera sono presenti nel prodotto finale, salvo indicazione diversa, se la formaldeide è stata usata nella produzione del vaccino.

Fenolo (2.5.15). Non più di 2,5 g/l di fenolo sono presenti nel prodotto finale, salvo indicazione diversa, se il fenolo è stato usato nella produzione del vaccino.

Acqua (2.5.12). Per i vaccini liofilizzati, non più del 3,0 per cento *m/m*, salvo indicazione diversa.

Volume estraibile (2.9.17). Se non diversamente giustificato ed autorizzato, soddisfa al saggio per il volume estraibile.

Endotossine batteriche. Salvo indicazione contraria giustificata ed autorizzata, effettuare il saggio delle endotossine batteriche sul prodotto finale. Se non è specificato il limite nella specifica monografia, il contenuto delle endotossine batteriche, determinato mediante un metodo appropriato (2.6.14), è inferiore al limite approvato per il prodotto considerato.

CONSERVAZIONE

Conservare protetti dalla luce. Salvo indicazione diversa nella monografia, la temperatura di conservazione è 5 ± 3 °C; i vaccini liquidi adsorbiti non devono essere congelati.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome della preparazione,
- un riferimento che identifica il lotto finale,
- la dose umana raccomandata e la via di somministrazione,
- le condizioni di conservazione,
- la data di scadenza,
- il nome e la quantità di qualsiasi conservante antimicrobico,
- il nome di qualsiasi antibiotico, adiuvante, aromatizzante o stabilizzante presente nel vaccino,
- il nome di qualsiasi costituente che può causare reazioni avverse e qualsiasi controindicazione all'uso del vaccino,
- se del caso, che il vaccino è adsorbito,
- per i vaccini liofilizzati:
 - il nome o la composizione e il volume del liquido da aggiungere per la ricostituzione,
 - il periodo di tempo entro il quale il vaccino deve essere usato dopo la ricostituzione.

VACCINI PER USO VETERINARIO

Vaccina ad usum veterinarium

Nel caso di vaccini in associazione, per ciascun componente che è oggetto di una monografia della Farmacopea, le prescrizioni di tale monografia si applicano a quel componente specifico con le modifiche, dove necessario, come indicato di seguito (vedi Saggi (Innocuità); Valutazione dell'innocuità dei vaccini per uso veterinario (5.2.6) e valutazione dell'efficacia dei vaccini per uso veterinario (5.2.7)).

DEFINIZIONE

I vaccini per uso veterinario sono preparazioni contenenti sostanze antigeniche e sono somministrati allo scopo di indurre un'immunità specifica e attiva nei confronti di malattie provocate da batteri, tossine, virus funghi e parassiti. I vaccini, vivi o inattivati, conferiscono un'immunità attiva che può essere trasferita passivamente attraverso gli anticorpi materni nei confronti degli immunogeni contenuti nel vaccino e talvolta anche nei confronti di organismi correlati antigenicamente. I vaccini possono contenere batteri, tossine, virus o funghi, vivi o inattivati, parassiti o frazioni antigeniche o sostanze prodotte da questi organismi e rese innocue pur conservando, tutte o in parte, le loro proprietà antigeniche; i vaccini possono anche contenere combinazioni di questi costituenti. Gli antigeni possono essere prodotti mediante la tecnologia del DNA ricombinante. Adjuvanti idonei possono essere incorporati al fine di aumentare le proprietà immunizzanti dei vaccini.

La terminologia usata nelle monografie dei vaccini per uso veterinario è definita nel capitolo 5.2.1.

1-1. VACCINI BATTERICI E ANATOSSINE BATTERICHE

I vaccini batterici e le anatoSSine batteriche sono preparati da colture allestite su idonei terreni solidi o liquidi, o mediante altri mezzi idonei; i requisiti di questa sezione non si applicano ai vaccini batterici preparati in colture cellulari o in animali vivi. Il ceppo di batterio usato può essere stato modificato mediante ingegneria genetica. L'identità, il potere antigenico e la purezza di ciascuna coltura batterica usata deve essere accuratamente controllata.

I vaccini batterici contengono batteri vivi o inattivati o loro componenti antigeniche; sono preparazioni liquide di diverso grado di opacità o possono essere liofilizzati.

Le anatoSSine batteriche sono preparate da tossine la cui tossicità è stata ridotta ad un livello bassissimo o completamente eliminata mediante mezzi fisici o chimici, pur conservando un adeguato potere immunizzante. Le tossine sono ottenute da ceppi selezionati di specifici microrganismi coltivati su terreni idonei o sono ottenute mediante altri mezzi idonei, per esempio, per sintesi chimica.

Le anatoSSine possono essere:

- liquide,
- precipitate con allume o altri agenti idonei,
- purificate e/o adsorbite su fosfato di alluminio, idrossido di alluminio, fosfato di calcio o su altre sostanze adsorbenti prescritte nella monografia.

Le anatoSSine batteriche sono liquidi limpidi o leggermente opalescenti. Le anatoSSine adsorbite sono sospensioni o emulsioni. Alcune anatoSSine possono essere liofilizzate.

Salvo diversa indicazione, le prescrizioni e i requisiti di seguito riportati per i vaccini batterici si applicano ugualmente ai vaccini batterici, alle anatoSSine batteriche e ai prodotti contenenti una combinazione di cellule batteriche ed anatoSSine.

1-2. VACCINI VIRALI

I vaccini virali sono preparati mediante crescita in colture cellulari appropriate (5.2.4), in tessuti, microrganismi, uova embrionate di gallina o, nel caso in cui non sia possibile alcuna alternativa, in animali vivi o mediante altri mezzi idonei. Il ceppo di virus usato può essere stato modificato mediante ingegneria genetica. I vaccini virali sono preparazioni liquide o liofilizzate di uno o più virus o di subunità virali o di peptidi.

I vaccini virali vivi sono preparati da virus di virulenza attenuata o di virulenza naturalmente bassa per la specie bersaglio.

I vaccini virali inattivati sono trattati mediante una procedura convalidata per l'inattivazione del virus e possono essere purificati e concentrati.

1-3. VACCINI A BASE DI VETTORI

I vaccini a base di vettori sono preparazioni liquide o liofilizzate di uno o più tipi di microrganismi vivi (batteri o virus) non patogeni o di bassa patogenicità per la specie bersaglio e nei quali sono stati inseriti uno o più

geni che codificano per gli antigeni che stimolano una risposta immunitaria protettiva nei confronti di altri microrganismi.

2. PRODUZIONE

2-1. PREPARAZIONE DEL VACCINO

I metodi di preparazione, che possono variare secondo il tipo di vaccino, devono essere tali da conservare l'identità e l'immunogenicità dell'antigene e da assicurare l'assenza di contaminazione da parte di agenti estranei.

Le sostanze di origine animale usate nella produzione dei vaccini per uso veterinario soddisfano ai requisiti descritti nel capitolo 5.2.5. Altre sostanze usate nella preparazione dei vaccini per uso veterinario soddisfano ai requisiti della Farmacopea (se esiste una monografia pertinente) e sono preparate in maniera tale da evitare la contaminazione del vaccino.

2-1.1. Substrati per la produzione. Le colture cellulari usate nella produzione dei vaccini per uso veterinario soddisfano ai requisiti descritti nel capitolo 5.2.4.

Nel caso in cui una monografia faccia riferimento ad allevamenti di polli esenti da microrganismi patogeni specificati (EOPS), questi allevamenti soddisfano ai requisiti descritti nel capitolo 5.2.2.

Per la produzione dei vaccini inattivati, nel caso in cui i microrganismi vaccinali sono coltivati in uova embrionate di gallina, questi embrioni provengono da allevamenti EOPS (5.2.2) o da allevamenti non EOPS ma sani ed esenti da certi agenti e dai loro anticorpi, così come specificato nella singola monografia. Può essere necessario dimostrare che il processo di inattivazione sia efficace nei confronti di potenziali contaminanti specificati. Per la produzione di un lotto di semenza primario e per tutti i passaggi di un microrganismo fino al lotto di semenza di lavoro e compreso questo, sono usate uova provenienti da allevamenti EOPS (5.2.2).

Nel caso sia inevitabile l'uso di animali o di tessuti animali nella produzione dei vaccini per uso veterinario, questi animali devono essere esenti da patogeni specificati, in relazione alla specie animale di origine e alla specie animale cui è destinato il vaccino.

2-1-2. Terreni di coltura usati per la preparazione della coltura di semenza e per la produzione. Si deve registrare almeno la composizione qualitativa dei terreni usati per la preparazione della coltura di semenza e per la produzione. Il grado di purezza di ciascun componente deve essere specificato. Nel caso in cui i terreni o i componenti siano individuati con marchi di proprietà, questi sono indicati ed è registrata una descrizione appropriata. I componenti derivati da animali sono specificati

rispetto alla specie di origine e al Paese di origine e devono soddisfare ai requisiti descritti nel capitolo 5.2.5. I processi di preparazione dei terreni usati, compresi i procedimenti di sterilizzazione, sono documentati.

L'aggiunta di antibiotici durante il processo di produzione è generalmente limitata ai fluidi delle colture cellulari e ad altri terreni, agli inoculi iniettati nelle uova e a materiali ottenuti dalla cute o da altri tessuti.

2-1-3. Lotti di semenza

2-1-3-1. Lotti di semenza batterica

2-1-3-1-1. Requisiti generali. Sono indicati il genere e la specie (e le varietà, se del caso) dei batteri usati nel vaccino. Se possibile, i batteri usati nella produzione sono manipolati secondo un sistema di lotto di semenza. Ciascun lotto di semenza primario è controllato come descritto di seguito. Di ciascun lotto di semenza primario si deve registrare l'origine, la data di isolamento, la cronologia dei passaggi (comprese le procedure di purificazione e caratterizzazione) e le condizioni di conservazione. A ciascun lotto di semenza primario è assegnato un codice specifico che ne permette l'identificazione.

2-1-3-1-2. Propagazione. E' specificato il numero minimo e massimo di sottocolture di ciascun lotto di semenza primario prima della fase di produzione. Sono documentati i metodi usati per la preparazione delle colture di semenza, la preparazione delle sospensioni per la semina, le tecniche di inoculazione delle semenze, il titolo e la concentrazione degli inoculi e i terreni di coltura usati. Si deve dimostrare che le caratteristiche del materiale di semenza (per esempio la dissociazione o l'antigenicità) non siano modificate da queste sottocolture. Sono documentate le condizioni di conservazione di ciascun lotto di semenza.

2-1-3-1-3. Identità e purezza. Ciascun lotto di semenza primario deve contenere esclusivamente la specie e il ceppo di batterio indicato. Si registra una breve descrizione del metodo di identificazione di ciascun ceppo mediante le caratteristiche biochimiche, sierologiche e morfologiche distinguendo il più possibile dai ceppi correlati e si indica anche il metodo per la determinazione della purezza del ceppo. Se il lotto di semenza primario contiene organismi vivi diversi dalle specie e dai ceppi indicati, il lotto non è ritenuto idoneo per la produzione del vaccino.

2-1-3-2. Lotti di semenza virali

2-1-3-2-1. Requisiti generali. I virus usati per la produzione del vaccino sono manipolati secondo un sistema di lotto di semenza. Ciascun lotto di semenza primario

è controllato come descritto di seguito. Si deve registrare l'origine, la data di isolamento, la cronologia dei passaggi (comprese le procedure di purificazione e caratterizzazione) e le condizioni di conservazione di ciascun lotto di semenza. A ciascun lotto di semenza primario è assegnato un codice specifico che ne permette l'identificazione. La produzione del vaccino di solito non deve essere effettuata usando un virus che ha subito più di cinque passaggi dal lotto di semenza primario. Salvo diversa indicazione, nei saggi sul lotto di semenza primario descritti di seguito i microrganismi usati non devono aver subito più di cinque passaggi dal lotto di semenza primario.

Nel caso in cui un lotto di semenza primario sia ottenuto a partire da una semenza cellulare primaria persistentemente infetta, i saggi di seguito riportati devono essere effettuati su un appropriato volume di virus ottenuto da cellule distrutte della semenza cellulare primaria. Nel caso in cui saggi pertinenti eseguiti su cellule distrutte siano stati effettuati allo scopo di convalidare l'idoneità della semenza cellulare primaria, non è necessario ripetere questi saggi.

2-1-3-2-2. Propagazione. Il lotto di semenza primario e tutti i successivi passaggi sono propagati su cellule, su uova embrionate o in animali che hanno dimostrato di essere idonei per la produzione del vaccino (vedi sopra) e, ove possibile, usando sostanze di origine animale che soddisfano ai requisiti prescritti nel capitolo 5.2.5.

2-1-3-2-3. Identificazione. Si deve usare un metodo appropriato per identificare il ceppo vaccinale e per distinguerlo il più possibile dai ceppi correlati.

2-1-3-2-4. Contaminazione batterica e fungina. Il lotto di semenza primario soddisfa al saggio di sterilità (2.6.1).

2-1-3-2-5. Micoplasmi (2.6.7). Il lotto di semenza primario soddisfa al saggio dei micoplasmi (metodo di coltura e metodo delle colture cellulari indicatrici).

2-1-3-2-6. Assenza di virus estranei. Le monografie possono contenere dei requisiti per l'assenza di virus estranei; nel caso contrario si applicano i requisiti riportati di seguito.

Allestire una serie di preparazioni di anticorpi monoclonali o policlonali contenenti elevati livelli di anticorpi neutralizzanti il virus del lotto di semenza, usando un antigene che non deriva da alcun passaggio del virus isolato da cui è stato preparato il lotto di semenza primario. Ciascun lotto di siero è mantenuto a 56 °C per 30 min per inattivare il complemento. Ciascun lotto deve essere esente da anticorpi nei confronti di potenziali contaminanti del virus della semenza e da effetti non specifici inibenti la capacità dei virus di infettare e moltiplicarsi nelle cellule (o nelle uova, se del caso). Se un tale siero non

può essere ottenuto, si possono usare altri metodi per rimuovere o neutralizzare specificamente il virus della semenza virale.

Se il virus del lotto di semenza può interferire con il metodo e la sensibilità del saggio per i virus estranei, trattare un campione del lotto di semenza primaria con una quantità minima di anticorpo monoclonale o policlonale in modo che il virus vaccinale sia il più possibile neutralizzato o rimosso. La miscela finale virus-siero dovrebbe contenere, se possibile, almeno il contenuto di dieci dosi di vaccino in 0,1 ml per i vaccini aviari e in 1 ml per gli altri vaccini. Per i vaccini aviari i saggi da effettuare sui lotti di semenza sono riportati nel capitolo 2.6.24. Per i vaccini destinati ai mammiferi, il lotto di semenza o la miscela del lotto di semenza e il sierimmune sono sottoposti al saggio per verificare l'assenza di agenti estranei come riportato di seguito.

Inoculare la miscela in colture di almeno 70 cm² del tipo di cellule richiesto. Le colture possono essere inoculate ad un qualsiasi stadio di crescita appropriato fino al 70 per cento di confluenza. Si deve mantenere come controllo almeno un monostrato di ciascun tipo. Le colture devono essere controllate giornalmente per una settimana. Alla fine di questo periodo le colture sono congelate e scongelate per tre volte, sottoposte a centrifugazione per rimuovere i detriti cellulari e di nuovo inoculate nello stesso tipo di cellule precedentemente usate. Questa operazione è ripetuta per due volte. Il passaggio finale deve produrre una quantità sufficiente di cellule su appropriati supporti per effettuare i saggi descritti di seguito.

Gli agenti citopatici ed emoadsorbenti sono controllati usando i metodi descritti nelle principali sezioni relative al controllo delle colture cellulari (5.2.4) e sono usate tecniche come l'immunofluorescenza per mettere in evidenza i contaminanti specifici per i saggi sulle colture cellulari. Il lotto di semenza primario è inoculato in:

- cellule primarie della specie di origine del virus,
- cellule sensibili ai virus patogeni per le specie cui è destinato il vaccino,
- cellule sensibili ai pestivirus.

Se risulta che il lotto di semenza primario contiene microrganismi vivi diversi dal virus della specie e del ceppo dichiarato o antigeni virali estranei, esso non è idoneo per la produzione del vaccino.

2-1-4. Inattivazione. I vaccini inattivati sono sottoposti ad un processo di inattivazione convalidato. Il controllo della cinetica di inattivazione descritto di seguito si effettua una sola volta per un dato processo di inattivazione. La restante parte di questa sezione si applica a

ciascun ciclo di produzione. Quando si effettuano i saggi di inattivazione, è essenziale considerare la possibilità che in certe condizioni di produzione, i microrganismi possono essere fisicamente protetti nei confronti delle sostanze inattivanti.

2-1-4-1. *Cinetica di inattivazione.* È necessario dimostrare che l'agente inattivante e il processo di inattivazione, nelle condizioni di produzione, siano in grado di inattivare i microrganismi vaccinali. E' opportuno stabilire adeguati dati relativi alla cinetica di inattivazione. Generalmente, il tempo richiesto per l'inattivazione non dovrebbe essere superiore al 67 per cento della durata del processo di inattivazione.

2-1-4-2. *Aziridine.* Se come agente inattivante si usa un composto derivato dall'aziridina si deve dimostrare che alla fine del processo di inattivazione non vi siano residui dell'agente inattivante. Questo può essere ottenuto mediante neutralizzazione dell'agente inattivante con tiosolfato e mettendo in evidenza il tiosolfato residuo nella raccolta inattivata alla fine del processo di inattivazione.

2-1-4-3. *Formaldeide.* Se la formaldeide è usata come agente inattivante, deve essere effettuato un saggio per evidenziare la formaldeide libera come descritto nella sezione Saggi.

2-1-4-4. *Altri agenti inattivanti.* Quando sono usati altri metodi di inattivazione, devono essere effettuati appropriati saggi per dimostrare che l'agente inattivante sia stato rimosso o ridotto ad un livello residuo accettabile.

2-1-4-5. *Batteri/virus vivi residui e/o saggio di detossificazione.* Effettuare un saggio per verificare la completa inattivazione e/o detossificazione immediatamente dopo la procedura stessa e, se del caso, dopo la neutralizzazione o l'eliminazione dell'agente neutralizzante o detossificante.

2-1-4-5-1. *Vaccini batterici.* Il saggio prescelto deve essere appropriato per il batterio vaccinale usato e deve consistere di almeno due passaggi sul terreno di produzione o, se per la produzione è usato un terreno solido, su un idoneo terreno liquido o sul terreno previsto nella specifica monografia. Il prodotto soddisfa al saggio se si dimostra l'assenza di qualsiasi microrganismo vivo.

2-1-4-5-2. *Anatossine batteriche.* Il saggio prescelto deve essere appropriato alla tossina o alle tossine presenti e deve essere il più sensibile tra quelli a disposizione.

2-1-4-5-3. *Vaccini virali.* Il saggio prescelto deve essere appropriato al virus vaccinale usato e deve consistere di almeno due passaggi su cellule, uova embrionate o, nel caso in cui non sia disponibile alcun altro metodo sensibile, in animali. La quantità dei campioni di cellule, uova o animali deve essere sufficiente ad assicu-

rare l'appropriata sensibilità del saggio. Per i saggi su colture cellulari, inoculare 1,0 ml della raccolta inattivata in un monostrato della coltura cellulare di almeno 150 cm². Il prodotto soddisfa al saggio se si dimostra l'assenza di qualsiasi virus vivo o di altri microrganismi.

Il vaccino finale in "bulk" si prepara mescolando uno o più lotti di antigene, che soddisfano a tutti i principali requisiti, con tutte le sostanze ausiliarie come adiuvanti, stabilizzanti, conservanti antimicrobici e diluenti.

2-2. SCELTA DELLA COMPOSIZIONE DEL VACCINO E SCELTA DEL CEPPO VACCINALE

Per la scelta della composizione del vaccino e del ceppo vaccinale, le caratteristiche importanti che devono essere valutate comprendono l'innocuità, l'efficacia e la stabilità. Requisiti generali per la valutazione dell'innocuità e dell'efficacia sono riportati nel capitolo 5.2.6 e nel capitolo 5.2.7. Questi requisiti possono essere formulati in maniera più esplicita o integrati da requisiti di specifiche monografie.

Per i vaccini vivi viene stabilito durante gli studi di sviluppo un titolo virale massimo accettabile dal punto di vista della sicurezza. Questo titolo è usato in seguito come titolo massimo accettabile per ciascun lotto di vaccino al momento del rilascio del lotto stesso.

2-2-1. **Attività e immunogenicità.** I saggi riportati in Attività e Immunogenicità nelle monografie hanno un duplice scopo:

- la sezione Attività stabilisce, mediante saggi ben controllati realizzati nelle condizioni sperimentali, la capacità minima accettabile di vaccinazione di tutti i vaccini, prevista come scopo nella definizione, che deve essere garantita durante tutto il periodo di validità;
- gli studi realizzati in condizioni sperimentali controllati sono generalmente parte della dimostrazione globale dell'efficacia di un vaccino (vedere capitolo 5.2.7); il saggio riportato nella sezione Immunogenicità (che generalmente rinvia alla sezione Attività) è appropriato come parte di questo tipo di saggio.

2-2-2. **Via di somministrazione.** Durante lo sviluppo di un vaccino, l'innocuità e l'immunogenicità sono dimostrate per ciascuna delle vie di somministrazione raccomandate. Si riporta di seguito una lista non esaustiva di tali vie di somministrazione:

- intramuscolare;
- sottocutanea;
- endovenosa;
- oculare;

- orale;
- nasale;
- uso podale;
- puntura alare;
- intradermica;
- intraperitoneale;
- *in ovo*.

2-2-3. Metodi di somministrazione. Durante lo sviluppo di un vaccino l'innocuità e l'immunogenicità sono dimostrate per ciascuno dei metodi di somministrazione raccomandati.

Si riporta di seguito una lista non esaustiva di tali metodi di somministrazione:

- iniezione;
- acqua da bere;
- spray;
- collirio;
- scarificazione;
- impianto;
- immersione.

2-2-4. Categorie di animali. Le monografie possono indicare che un dato saggio sia effettuato per ciascuna categoria di animali delle specie bersaglio per le quali il prodotto è raccomandato o deve essere raccomandato. Si riporta di seguito una lista non esaustiva delle categorie prese in considerazione:

- *Mammiferi*:
 - animali gravidi/animali non gravidi,
 - animali destinati principalmente alla riproduzione/animali destinati principalmente alla produzione alimentare,
 - animali dell'età o della dimensione minima raccomandata per la vaccinazione.
- *Specie aviarie*:
 - volatili destinati principalmente alla produzione di uova/volatili destinati principalmente alla produzione di carne,
 - volatili prima della deposizione delle uova/volatili dopo l'inizio della deposizione delle uova.
- *Pesci*:
 - pesci riproduttori/pesci essenzialmente destinati alla produzione alimentare.

2-2-5. Conservanti antimicrobici. I conservanti antimicrobici vengono usati per prevenire i danni e gli effetti collaterali causati dalla contaminazione microbica che può verificarsi durante l'uso di un vaccino che deve essere utilizzato entro e non più di 10 h dopo la prima apertura. I conservanti antimicrobici non sono aggiunti ai prodotti liofilizzati ma, se giustificato, considerando

il periodo massimo raccomandato per l'uso dopo la ricostituzione del prodotto, essi possono essere aggiunti nel diluente per i prodotti liofilizzati dispensati in dose multipla. Per le preparazioni liquide a dose unica l'aggiunta dei conservanti antimicrobici non è generalmente ammessa, ma può essere accettabile, per esempio, nei casi in cui lo stesso vaccino è ripartito in recipienti a dose unica e multidose ed è usato per specie che non sono destinate alla produzione alimentare. Per le preparazioni liquide multidose si valuta la necessità dell'efficacia del conservante antimicrobico, considerando la possibilità di contaminazione durante l'uso del prodotto e il periodo massimo raccomandato per l'uso dopo l'apertura del recipiente. Nel corso degli studi di sviluppo l'efficacia del conservante antimicrobico durante tutto il periodo di validità deve essere dimostrata all'Autorità competente. L'efficacia del conservante antimicrobico viene valutata come descritto nel capitolo 5.1.3; per una preparazione multidose sono prelevati ulteriori campioni per controllare l'effetto del conservante antimicrobico nel corso del periodo massimo d'uso dopo l'apertura del recipiente. Se non sono soddisfatti i criteri A e B, in casi giustificati si applicano i seguenti criteri ai vaccini per uso veterinario: batteri, nessun aumento da 24 h a 7 giorni, riduzione di 3 log a 14 giorni, nessun aumento a 28 giorni; funghi, nessun aumento a 14 giorni e a 28 giorni.

Generalmente non è consentita l'aggiunta di antibiotici come conservanti antimicrobici.

2-2-6. Stabilità. Il periodo di validità proposto è giustificato dai risultati degli studi di stabilità. I dati ad essa relativi si ottengono dai risultati delle titolazioni virali, delle conte batteriche o dei saggi di attività effettuati, ad intervalli regolari, fino a tre mesi oltre la data di scadenza, su almeno tre lotti di vaccino rappresentativi e consecutivi mantenuti nelle condizioni di conservazione raccomandate e, a seconda del caso, dai risultati ottenuti dagli studi sul contenuto di umidità (per prodotti liofilizzati), dai saggi fisici sugli adiuvanti, dai saggi chimici sulle sostanze come i componenti adiuvanti e conservanti e il pH.

Se possibile, si effettuano studi sulla stabilità del vaccino ricostituito, utilizzando il prodotto ricostituito secondo le raccomandazioni proposte.

2.3. SAGGI DEL FABBRICANTE.

Alcuni saggi possono essere effettuati sul vaccino finale in "bulk" più che sul lotto o i lotti preparati da esso; questi saggi comprendono quelli dei conservanti antimicrobici, formaldeide libera e determinazione dell'attività per i vaccini inattivati.

2-3-1. **Batteri/virus vivi residui e/o saggio di detossificazione.** Per i vaccini inattivati, nei casi in cui le sostanze accessorie possono interferire con un saggio di inattivazione e/o detossificazione, questi si effettuano durante la preparazione della sospensione madre finale del vaccino, dopo che i differenti lotti di antigene sono stati mescolati ma prima dell'aggiunta delle sostanze ausiliarie; il saggio per la verifica del processo di inattivazione e/o detossificazione può essere quindi omesso sul vaccino finale in "bulk" e sul lotto.

Nel caso in cui ci sia il rischio di recupero della tossicità, il saggio di detossificazione effettuato allo stadio più avanzato del processo di produzione al quale la sensibilità del saggio non è compromessa (per es. dopo che i differenti lotti di antigene sono stati mescolati ma prima dell'aggiunta delle sostanze ausiliarie) è importante per dimostrare l'assenza di ritorno alla tossicità.

2-3-2. Saggio di attività su lotto

Per la maggior parte dei vaccini i saggi riportati nelle sezioni Attività o Immunogenicità non sono adatti ai controlli di routine dei lotti di vaccino.

Per i vaccini vivi viene stabilito durante gli studi di sviluppo il titolo minimo accettabile in virus o batteri che dà risultati soddisfacenti nel saggio Attività o in altri studi di efficacia. Per i saggi di routine deve essere dimostrato per ciascun lotto che il vaccino possiede, al momento del rilascio, un titolo in virus o un numero di batteri tale che alla fine del periodo di validità, alla luce degli studi di stabilità, il vaccino conservato nelle condizioni raccomandate, conterrà almeno il titolo virale o il numero di batteri accettabile determinato durante gli studi di sviluppo.

Per i vaccini inattivati, se il saggio descritto nella sezione Attività non è usato come saggio di routine, viene stabilito un saggio di attività su lotto durante gli studi di sviluppo. Lo scopo del saggio di attività su lotto è di assicurare che ciascun lotto, se sottoposto a saggio soddisferebbe al saggio descritto nelle sezioni Attività e Immunogenicità. I criteri di accettazione per ciascun saggio di attività sono quindi stabiliti per correlazione con il saggio descritto in Attività. Quando un saggio di attività su lotto è descritto in una monografia, è dato come esempio di un saggio che è considerato idoneo dopo la definizione di una correlazione con il saggio di attività; possono anche essere utilizzati altri modelli.

2-3-3. **Lotto.** Salvo diversa indicazione nella monografia, il vaccino finale in "bulk" è ripartito asettica-

mente in recipienti sterili, con chiusura inviolabile, che sono chiusi in modo da escludere qualsiasi contaminazione.

Solo un lotto che soddisfa a ciascuno dei requisiti riportati di seguito in 3. Saggi sul lotto e nelle pertinenti singole monografie può essere rilasciato per l'uso. Con l'accordo dell'Autorità competente, alcuni saggi su lotto possono essere omessi quando saggi in processo danno la stessa garanzia o una migliore che il lotto sia conforme o quando sono stati effettuati saggi alternativi convalidati rispetto al metodo di Farmacopea.

Il saggio di identificazione può essere spesso convenientemente combinato con il saggio di attività su lotto per evitare l'uso superfluo di animali. Per un dato vaccino, può essere utilizzato un saggio *in vitro* convalidato per evitare l'uso superfluo di animali.

È ammesso che, in accordo con le Prescrizioni generali (*Sezione 1.1 Generalità*), per un dato vaccino l'applicazione di routine del saggio di innocuità non sarà richiesta dall'Autorità competente a salvaguardia degli animali, se è stato prodotto un sufficiente numero consecutivo di lotti e hanno dimostrato di soddisfare al saggio, dimostrando così la consistenza del processo di produzione. Cambiamenti significativi del processo di produzione possono necessitare di una ripresa dei saggi di routine per ristabilire la consistenza. Il numero di lotti consecutivi da sottoporre al saggio dipende da un certo numero di fattori come il tipo di vaccino, la frequenza di produzione dei lotti e l'esperienza con il vaccino acquisita durante i saggi di sviluppo di innocuità e durante l'applicazione del saggio di innocuità su lotto. Senza pregiudicare la decisione dell'Autorità competente, alla luce dei dati disponibili per un dato vaccino, il controllo di 10 lotti consecutivi sarà generalmente sufficiente per la maggior parte dei prodotti. Per i prodotti che presentano un rischio di innocuità può essere necessario continuare la ripresa del saggio di sicurezza su ciascun lotto.

Saggi su animali. In accordo con le disposizioni della *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes*, i saggi devono essere effettuati in modo tale da utilizzare il minimo numero di animali e da ridurre al minimo il dolore, la sofferenza, il distress, il dolore prolungato. I criteri per la valutazione dei saggi nelle monografie devono essere applicati alla luce di queste considerazioni. Per esempio se è indicato che un animale è considerato positivo, infetto, ecc., quando compaiono dei segni clinici tipici, allora, non appena è chiaro che il risultato non sarà influenzato, l'animale

in questione dovrà essere sacrificato o trattato appropriatamente per evitare ogni inutile sofferenza. Conformemente alle Prescrizioni generali, possono essere usati metodi di saggio alternativi per dimostrare la conformità alla monografia e l'uso di questi saggi è particolarmente incoraggiato quando questo consente di sostituire o ridurre l'utilizzo di animali o la riduzione della loro sofferenza.

2-3-4-1. *Saggi fisici*. Un vaccino contenente un adiuvante oleoso è sottoposto al saggio per la determinazione della viscosità mediante un metodo appropriato; la viscosità deve essere compresa nei limiti stabiliti per il prodotto. Si deve dimostrare la stabilità dell'emulsione.

2-3-4-2. *Saggi chimici*. Si deve dimostrare, effettuando dei saggi appropriati, che la concentrazione di sostanze come per esempio l'alluminio e i conservanti è compresa nei limiti stabiliti per il prodotto.

2-3-4-3. *pH*. Misurare il pH dei prodotti liquidi e dei diluenti e dimostrare che questo è compreso nei limiti stabiliti per il prodotto.

2-3-4-4. *Acqua*. Se del caso, controllare il processo di liofilizzazione mediante la determinazione del contenuto di acqua e dimostrare che è compreso nei limiti stabiliti per il prodotto.

3. SAGGI SU LOTTO

Le singole monografie riportano anche i saggi che devono essere effettuati su ciascun particolare vaccino.

Tutte le uova di gallina, i polli e le colture di cellule di pollo usate nei saggi di controllo devono derivare da allevamenti EOPS (5.5.2).

3-1. **Identificazione**. Per i vaccini inattivati, l'identificazione prescritta nelle monografie è generalmente un saggio di induzione degli anticorpi perché tale saggio si può applicare a tutti i vaccini.

3-2. **Formaldeide** (2.4.18; usare il Metodo B se è stato aggiunto sodio metabisolfito per neutralizzare l'eccesso di formaldeide). Nel caso in cui la formaldeide sia stata usata nella preparazione, la concentrazione di formaldeide libera non è superiore a 0,5 g/l a meno che non sia stata dimostrata l'innocuità di una quantità superiore.

3-3. **Fenolo** (2.5.15). Se il vaccino contiene fenolo, la concentrazione non è superiore a 5 g/l.

3-4. **Sterilità** (2.6.1). Quando prescritto nella monografia, i vaccini soddisfano al saggio di sterilità. Se il volume di liquido nel recipiente è superiore a 100 ml usare, ove possibile, il metodo della filtrazione su

membrana. Nel caso in cui questo metodo non possa essere usato, si può usare il metodo della inoculazione diretta.

Se il volume di liquido in ciascun recipiente è uguale o superiore a 20 ml, il volume minimo da usare per ciascun terreno di coltura corrisponde al 10 per cento del contenuto o a 5 ml, quale dei due è inferiore.

Il numero appropriato di campioni da sottoporre a saggio (2.6.1) corrisponde all'1 per cento del lotto, un minimo di quattro e un massimo di dieci.

Nel caso di vaccini virali aviari vivi solo per uso non parenterale il requisito di sterilità è generalmente sostituito dai requisiti di assenza di microrganismi patogeni e da un massimo di 1 microrganismo non patogeno per dose.

3-5. **Agenti estranei**. Le monografie prescrivono un insieme di misure che applicate complessivamente danno un accettabile grado di sicurezza che il prodotto finale non contenga agenti infettivi estranei. Queste misure comprendono:

- 1) la produzione entro un sistema di lotto di semenza e un sistema di semenza cellulare, se possibile;
- 2) i saggi estensivi per la ricerca di virus estranei su lotti di semenza e semenze cellulari;
- 3) i requisiti di allevamenti EOPS per i substrati utilizzati per la produzione dei vaccini;
- 4) saggi su sostanze di origine animale che devono essere sottoposte se possibile ad una procedura di inattivazione;
- 5) per i vaccini vivi, la realizzazione sul prodotto finale dei saggi per la ricerca di agenti infettivi estranei; questi saggi sono meno estensivi di quelli effettuati nei saggi precedenti grazie alla garanzia data dei saggi di processo.

In caso di dubbio, i saggi destinati al lotto di semenza di un vaccino vivo possono essere anche applicati al prodotto finale. Se in un dato saggio si riscontra un agente estraneo, il vaccino non soddisfa alla monografia.

I vaccini aviari virali vivi soddisfano al saggio per gli agenti estranei nei lotti di prodotto finito (2.6.25).

3-6. **Micoplasm** (2.6.7). Quando prescritto in una monografia, il vaccino soddisfa al saggio dei micoplasm (metodo di coltura).

3-7. **Innocuità**. Generalmente, somministrare due dosi di vaccino inattivato e/o dieci dosi di un vaccino vivo, attraverso una delle vie di somministrazione raccomandate. In alcune circostanze può essere necessario ridurre il numero prescritto di dosi o adattare il metodo di ricostituzione ed iniezione, per esempio per un vaccino in associazione per il quale è difficile ricostituire

10 dosi della componente viva in 2 dosi della componente inattiva. Gli animali sono mantenuti in osservazione per il periodo più lungo indicato nella monografia. Non si devono verificare reazioni anormali locali o sistemiche. Quando alcuni lotti sono preparati dallo stesso bulk finale, il saggio di innocuità è effettuato sul primo lotto e poi omesso sugli altri lotti preparati dallo stesso bulk finale.

Durante gli studi di sviluppo sono definiti alla luce degli studi di innocuità, il tipo e il grado di reazioni che si possono verificare con l'uso del vaccino. Questa definizione è poi usata come parte delle procedure operative per il saggio di innocuità su lotto per valutare le reazioni accettabili e non accettabili.

Lo stato immunitario degli animali da utilizzare per il saggio di innocuità è specificato nella singola monografia. Per la maggior parte delle monografie è specificata una delle seguenti tre categorie:

- 1) gli animali devono essere esenti da anticorpi nei confronti di virus, batteri, tossine, ecc., contenuti nel vaccino,
- 2) gli animali dovrebbero essere preferibilmente esenti da anticorpi ma possono essere usati animali con un basso livello di anticorpi così come animali che non sono stati vaccinati e la somministrazione del vaccino non deve causare una risposta anamnesticca,
- 3) gli animali non devono essere stati vaccinati nei confronti della malattia che il vaccino deve prevenire.

Come regola generale la categoria 1 è specificata per i vaccini vivi. Per gli altri vaccini è generalmente specificata la categoria 2 ma se la maggior parte degli animali disponibili per i saggi soddisfano alla categoria 1, questa può anche essere specificata per i vaccini inattivati. La categoria 3 è specificata per alcuni vaccini inattivati per i quali la determinazione degli anticorpi prima del saggio non è necessaria o non è praticabile. Per i vaccini aviari come regola generale, è specificato l'uso di volatili EOPS.

Per i vaccini aviari, il saggio di innocuità è generalmente effettuato usando 10 polli EOPS (5.2.2) ad eccezione dei vaccini non raccomandati per l'uso per i polli, il saggio è effettuato su 10 uccelli di una specie per la quale il vaccino è raccomandato e gli uccelli devono essere esenti da anticorpi nei confronti dell'agente della malattia per la quale il vaccino è destinato a fornire protezione.

3-8. **Attività.** Il vaccino soddisfa i requisiti del saggio riportato in Potere immunogeno (sezione 2-3-1) quando è somministrato attraverso la via di somministrazione e il metodo raccomandati.

Vedere Scelta della composizione del vaccino e scelta del ceppo vaccinale nella sezione Produzione.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce e ad una temperatura di 5 ± 3 °C, salvo diversa indicazione. Le preparazioni liquide non devono essere congelate, salvo diversa indicazione.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- che la preparazione è per uso veterinario,
- il volume della preparazione e il numero delle dosi nel recipiente,
- la via di somministrazione,
- il tipo o i tipi di batteri o di virus usati e per i vaccini vivi il numero minimo di batteri vivi o il titolo virale minimo e massimo,
- se del caso, per i vaccini inattivati l'attività biologica minima espressa in Unità Internazionali,
- se del caso, il nome e la quantità del conservante antimicrobico o di qualsiasi altra sostanza aggiunta al vaccino,
- il nome di qualsiasi sostanza che può causare reazioni indesiderate,
- per i vaccini liofilizzati:
 - il nome o la composizione e il volume del liquido da aggiungere per la ricostituzione,
 - il periodo entro il quale il vaccino deve essere utilizzato dopo la ricostituzione,
- per i vaccini con un adiuvante oleoso l'avvertenza che se il vaccino è accidentalmente iniettato nell'uomo è necessario un immediato intervento del medico,
- le specie animali alle quali il vaccino è destinato,
- le indicazioni per l'uso del vaccino,
- le istruzioni per l'uso,
- qualsiasi controindicazione all'uso del prodotto compresa qualsiasi avvertenza di pericolo per la somministrazione in sovradosaggio,
- le dosi raccomandate per le diverse specie animali.

Forme farmaceutiche

Glossario	885	Preparazioni liquide per applicazione cutanea	906
Bastoncini	886	Preparazioni liquide per uso orale	908
Capsule	886	Preparazioni liquide veterinarie per applica- zione cutanea	911
Cerotti transdermici	889	Preparazioni nasali	913
Compresse	890	Preparazioni oftalmiche	915
Dispositivi intraruminali	894	Preparazioni oromucosali	918
Gomme da masticare medicate	895	Preparazioni parenterali	923
Granulati	895	Preparazioni per inalazione	926
Polveri per applicazione cutanea	897	Preparazioni per irrigazione	932
Polveri per uso orale	898	Preparazioni rettali	933
Premiscele per mangimi medicati per uso vete- rinario	899	Preparazioni semisolide per applicazione cutanea	935
Preparazioni auricolari	900	Preparazioni vaginali	938
Preparazioni farmaceutiche pressurizzate	902	Schiume medicate	941
Preparazioni intramammarie per uso veterinario	903	Tamponi medicati	942
Preparazioni intrauterine per uso veterinario	904		

GLOSSARIO

Il testo introduttivo che segue fornisce definizioni e/o spiegazioni di termini che si possono trovare nelle monografie generali sulle forme farmaceutiche, o che possono essere in queste usati senza che vengano in quel contesto definiti. Se importante, viene fatto riferimento ad altri termini equivalenti che si possono trovare in altre pubblicazioni o contesti.

Questo glossario viene dato per informazione.

Termini standard

Termini di riferimento per descrivere la forma farmaceutica di un prodotto medicinale, le vie di somministrazione e i contenitori usati. Tali termini sono stati stabiliti dalla Commissione della Farmacopea Europea e sono forniti in una pubblicazione a parte sui Termini Standard.

Sostanza attiva

Termine equivalente: principio attivo, sostanza medicinale, ingrediente farmaceutico attivo.

Veicolo

Un veicolo è il vettore, costituito da uno o più eccipienti, per la/le sostanze attive in una preparazione liquida.

Base

Una base è il vettore, costituito da uno o più eccipienti, per la/le sostanze attive in preparazioni semi-solide e solide.

Forme farmaceutiche a rilascio convenzionale

Le forme farmaceutiche a rilascio convenzionale sono preparazioni che mostrano un rilascio della/e sostanze attive non deliberatamente modificato per mezzo di un progetto particolare di formulazione e/o metodo di produzione. Nel caso di una forma farmaceutica solida, l'andamento di dissoluzione del principio attivo dipende essenzialmente dalle sue proprietà intrinseche. Termine equivalente: forma farmaceutica a rilascio immediato.

Forme farmaceutiche a rilascio modificato

Le forme farmaceutiche a rilascio modificato sono preparazioni in cui la velocità e/o il sito di rilascio del/dei principi attivi sono differenti da quelli di una forma farmaceutica convenzionale somministrata per la stessa via. Questa deliberata modificazione si ottiene con uno speciale progetto di formulazione e/o metodo di produzione. Le forme farmaceutiche a rilascio modificato comprendono le forme a rilascio prolungato, a rilascio ritardato e a rilascio ripetuto.

Forme farmaceutiche a rilascio prolungato

Le forme farmaceutiche a rilascio prolungato sono forme di dosaggio a rilascio modificato che mostrano un rilascio della/e sostanze attive più lento di quello di una forma di dosaggio convenzionale somministrata per la stessa via. Il rilascio prolungato si ottiene attraverso uno speciale progetto di formulazione e/o metodo di produzione. Termine equivalente: forma di dosaggio a rilascio protratto.

Forme farmaceutiche a rilascio ritardato

Le forme farmaceutiche a rilascio ritardato sono forme di dosaggio a rilascio modificato che mostrano un rilascio della/e sostanze attive che è ritardato. Il rilascio ritardato si ottiene con uno speciale progetto di formulazione e/o metodo di produzione. Le forme di dosaggio a rilascio ritardato comprendono preparazioni gastroresistenti come definite nelle monografie generali sulle forme farmaceutiche solide per uso orale.

Forme farmaceutiche a rilascio ripetuto

Le forme farmaceutiche a rilascio ripetuto sono forme di dosaggio a rilascio modificato che mostrano un rilascio sequenziale ripetuto del/dei principi attivi. Il rilascio ripetuto si ottiene con uno speciale progetto di formulazione e/o metodo di produzione.

Parenterali a grande volume

Infusioni e iniettabili forniti in contenitori con un contenuto nominale di più di 100 ml.

Parenterali a piccolo volume

Infusioni e iniettabili forniti in contenitori con un contenuto nominale di 100 ml o meno.

BASTONCINI

Styli

Ulteriori specifiche per i Bastoncini si possono trovare, se necessario, in altre monografie generali, per esempio nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

I bastoncini sono preparazioni solide destinate all'applicazione locale. Sono di forma cilindrica o conica e sono costituiti da uno o più principi attivi soli o disciolti o dispersi in un eccipiente adatto che può disciogliersi o fondere alla temperatura corporea.

I bastoncini uretrali e quelli da introdurre nelle ferite devono essere sterili.

PRODUZIONE

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione dei bastoncini si adottano misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni su questo aspetto sono date nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

I bastoncini uretrali e altri bastoncini sterili sono preparati utilizzando materiali e metodi adatti ad assicurare la sterilità e ad evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni su questo aspetto sono date nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili (5.1.1)*.

Nella preparazione dei bastoncini ci si preoccupa di assicurare che la preparazione soddisfi un saggio per l'uniformità di massa o, se necessario, per l'uniformità di contenuto.

SAGGI

Sterilità (2.6.1). I bastoncini uretrali e quelli da introdurre nelle ferite, soddisfano al saggio di sterilità.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- la quantità del o dei principi attivi per bastoncino,
- per i bastoncini uretrali e per quelli da introdurre nelle ferite, che sono sterili.

CAPSULE

Capsulae

Le specifiche di questa monografia non si applicano necessariamente a preparazioni presentate come capsule destinate ad un uso diverso dalla somministrazione orale. Le specifiche per tali preparazioni si possono trovare, quando appropriato, in altre monografie generali, per esempio Preparazioni rettali (1145) e Preparazioni vaginali (1164).

DEFINIZIONE

Le capsule sono preparazioni solide con involucri duri o molli di varie forme e capacità, contenenti usualmente una dose unica di principio attivo. Sono destinate alla somministrazione orale.

Gli involucri delle capsule sono fatti di gelatina o altre sostanze, la cui consistenza può essere regolata per aggiunta di sostanze come glicerolo o sorbitolo. Possono essere aggiunti eccipienti come tensioattivi, cariche opache, conservanti antimicrobici, dolcificanti, coloranti autorizzati dalla competente autorità e aromatizzanti. Le capsule possono avere sulla superficie delle marcature.

I contenuti delle capsule possono essere di consistenza solida, liquida o pastosa; consistono di uno o più principi attivi con o senza eccipienti come solventi, diluenti, lubrificanti e disaggreganti. I contenuti non devono causare alterazione dell'involucro. Questo, tuttavia, viene attaccato dai fluidi digestivi così che siano liberati i contenuti.

Se del caso, i contenitori per capsule soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori (3.1. e sottosezioni)* e *Contenitori (3.2. e sottosezioni)*.

Si possono distinguere varie categorie di capsule:

- capsule rigide,
- capsule molli,
- capsule a rilascio modificato,
- capsule gastroresistenti,
- cialdini.

PRODUZIONE

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle capsule, si adottano misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica.

gica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le capsule soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le capsule con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa contenuta soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto di preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le capsule soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Dissoluzione. Può essere effettuato un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi, per esempio uno dei saggi descritti al *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide* (2.9.3).

Se è prescritto un saggio di dissoluzione, può non essere richiesto un saggio di disaggregazione.

CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura non superiore ai 30 °C.

ETICHETTE

L'etichetta indica il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

Capsule rigide

DEFINIZIONE

Le capsule rigide hanno involucri costituiti da due sezioni cilindriche preformate, un'estremità delle quali è arrotondata e chiusa, l'altra è aperta.

PRODUZIONE

Il o i principi attivi, usualmente allo stato solido (polvere o granulati), sono introdotti in una delle sezioni che è poi chiusa facendo scivolare l'altra sezione sopra di essa. La sicurezza della chiusura può essere rafforzata con mezzi idonei.

SAGGI

Disaggregazione. Le capsule rigide soddisfano al saggio per la disaggregazione di compresse e capsule (2.9.1). Utilizzare come liquido *acqua R*. Se giustificato ed autorizzato, può essere usato come mezzo liquido *acido cloridrico 0,1 M* oppure *succo gastrico artificiale R*. Se le capsule galleggiano sulla superficie dell'acqua, si può aggiungere un disco. Se non diversamente giustificato e autorizzato, azionare l'apparecchio per 30 min.

Capsule molli

DEFINIZIONE

Le capsule molli hanno involucri più spessi di quelli delle capsule dure. Gli involucri sono costituiti da un'unica parte e hanno diverse forme.

PRODUZIONE

Le capsule molli sono generalmente formate, riempite, saldate in un'unica operazione, ma per uso estemporaneo l'involucro può essere preformato. Il materiale dell'involucro può contenere un principio attivo.

Sostanze liquide possono essere introdotte direttamente; i solidi sono generalmente disciolti o dispersi in un veicolo adatto a dare una soluzione o una dispersione di consistenza pastosa.

Si può avere parziale migrazione dei costituenti dal contenuto della capsula all'involucro e viceversa, a causa della natura dei materiali e delle superfici di contatto.

SAGGI

Disaggregazione. Le capsule molli soddisfano al saggio per la disaggregazione di compresse e capsule (2.9.1). Utilizzare come liquido *acqua R*. Se giustificato ed autorizzato, può essere usato come mezzo liquido *acido cloridrico 0,1 M* oppure *succo gastrico artificiale R*.

Aggiungere un disco in ogni tubo. Sostanze medicinali liquide dispensate in capsule molli possono attaccare il disco; in questi casi, e quando autorizzato, il disco può essere omesso. Se non diversamente giustificato e autorizzato, azionare l'apparecchio per 30 min. Se le capsule non soddisfano al saggio perché aderiscono ai dischi, i risultati non sono validi. Ripetere il saggio su altre sei capsule omettendo i dischi. Le capsule soddisfano al saggio se tutte e sei sono disaggregate.

Capsule a rilascio modificato

DEFINIZIONE

Le capsule a rilascio modificato sono capsule rigide o molli in cui i contenuti o l'involucro o entrambi contengono eccipienti speciali oppure sono preparate con procedimento particolare che modifichi la velocità, il sito o il tempo al quale vengono rilasciati il o i principi attivi.

Le capsule a rilascio modificato includono le capsule a rilascio prolungato e le capsule a rilascio ritardato.

PRODUZIONE

Si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi.

Capsule gastroresistenti

DEFINIZIONE

Le capsule gastroresistenti sono capsule a rilascio ritardato preparate in modo da resistere al fluido gastrico ed a rilasciare il o i loro principi attivi nel fluido intestinale. Sono usualmente preparate riempiendo le capsule con granulati o con particelle provviste di un rivestimento gastro-resistente o, in certi casi, ricoprendo le capsule rigide o molli con un rivestimento gastroresistente (capsule enteriche).

PRODUZIONE

Per capsule riempite con granulati o con particelle ricoperte con un rivestimento gastroresistente, si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi.

SAGGI

Disaggregazione. Per capsule con involucro gastroresistente effettuare il saggio di disaggregazione (2.9.1) con le seguenti modifiche. Utilizzare come liquido *acido cloridrico 0,1 M* e azionare l'apparecchio per 2 h o altro tempo simile che possa essere autorizzato, senza i dischi. Esaminare lo stato delle capsule. Il tempo di resistenza al mezzo acido varia secondo la formulazione delle capsule in esame. Normalmente è di 2-3 h ma, anche con deviazioni autorizzate, non può essere inferiore ad 1 h. Nessuna capsula mostra segni di disaggregazione o di rottura che permettano fuoriuscita dei contenuti. Sostituire l'acido con *tampone fosfato soluzione a pH 6,8 R*. Quando giustificato ed autorizzato può essere usata una soluzione tampone a pH 6,8 addizionata di pancreas in polvere (per esempio, 0,35 g di *pancreas polvere R* per 100 ml di soluzione tampone). Aggiungere un disco in ogni tubo, azionare l'apparecchio per 60 min. Se le capsule non soddisfano al saggio perché aderiscono ai dischi, i risultati non sono validi. Ripetere il saggio su altre sei capsule tralasciando i dischi. Soddisfano al saggio se tutte e sei sono disaggregate.

Dissoluzione. Per capsule preparate da granuli o particelle già ricoperte con rivestimento gastroresistente, si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi, per esempio il saggio descritto al *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3)*.

Cialdini

DEFINIZIONE

I cialdini sono preparazioni solide costituite da un involucro duro contenente una dose unica di uno o più principi attivi. L'involucro del cialdino è fatto di pane azzimo usualmente di farina di frumento e consiste di due sezioni cilindriche appiattite preformate. Prima della somministrazione, i cialdini sono immersi in acqua per pochi secondi, posti sulla lingua e inghiottiti con un sorso d'acqua.

ETICHETTE

L'etichetta fissa il metodo di somministrazione dei cialdini.

CEROTTI TRANSDERMICI

Emplastra transcutanea

DEFINIZIONE

I cerotti transdermici sono preparazioni farmaceutiche flessibili di varie dimensioni, contenenti uno o più principi attivi, da applicare sulla pelle integra per rilasciare il o i principi attivi alla circolazione sistemica, dopo aver attraversato la barriera cutanea.

Sono costituiti normalmente da una protezione esterna che serve da supporto ad una preparazione contenente il o i principi attivi. La loro superficie di rilascio è protetta da una copertura che viene rimossa prima di applicare il cerotto alla pelle.

La protezione esterna è un foglio impermeabile al o ai principi attivi e normalmente impermeabile all'acqua, con funzione di sostegno e di protezione per la preparazione. Può avere le stesse dimensioni oppure essere più larga del cerotto. In quest'ultimo caso, la parte del foglio che sporge è coperta con sostanze adesive per pressione che assicurano l'adesione del cerotto alla pelle.

La preparazione contiene il o i principi attivi insieme con eccipienti come stabilizzanti, solubilizzanti o sostanze destinate a modificare la velocità di rilascio o ad aumentare l'assorbimento transdermico. Può trattarsi di una matrice monostrato o multistrato solida o semisolida e in questo caso sono la composizione e la struttura della matrice che regolano la diffusione del o dei principi attivi alla pelle. La matrice può contenere adesivi a pressione che assicurano l'adesione della preparazione alla pelle. La preparazione può anche essere costituita da un serbatoio semisolido, un lato del quale è costituito da una membrana che può controllare il rilascio e la diffusione del o dei principi attivi dalla preparazione. Le sostanze adesive per pressione possono, in questo caso, essere applicate ad alcune o a tutte le parti della membrana, o solamente intorno al bordo della membrana a livello della copertura esterna.

Il cerotto transdermico, quando viene applicato alla pelle asciutta, pulita e integra, aderisce saldamente per lieve pressione della mano o delle dita e può essere staccato senza provocare danno apprezzabile alla pelle o distacco della preparazione dalla protezione esterna. Il cerotto non deve essere irritante o sensibilizzante per la pelle, anche dopo ripetute applicazioni.

La copertura protettiva della superficie di rilascio generalmente è costituita da un foglio di materiale plastico o metallico. Quando si toglie, questa non deve staccare la preparazione (matrice o serbatoio) o lo strato adesivo dal cerotto.

I cerotti transdermici sono di norma confezionati singolarmente in sacchetti sigillati.

PRODUZIONE

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione di cerotti transdermici si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. I cerotti transdermici soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, i cerotti transdermici soddisfano al saggio C per l'uniformità di contenuto per le forme farmaceutiche a dose unica.

Dissoluzione. Può essere richiesto un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi, per esempio uno dei saggi descritti al *Saggio di dissoluzione per i cerotti transdermici* (2.9.4). Si possono usare il metodo dell'apparecchio a disco, il metodo della cella o il metodo del cilindro rotante, secondo l'opportunità, in funzione della composizione, delle dimensioni e forma del cerotto.

Può essere utilizzata una membrana. Essa può essere di vari materiali come cellulosa porosa inerte o siliconi e non deve influenzare la cinetica di rilascio del o dei principi attivi dal cerotto. Inoltre, non deve contenere sostanze che possono interferire con la sua efficacia (ad esempio grasso). La membrana può essere trattata in modo opportuno prima della prova, per esempio mantenendola per 24 h nel mezzo da usare per il saggio. Si applica la membrana sopra la superficie di rilascio del cerotto, evitando la formazione di bolle d'aria.

Le condizioni del saggio e le specifiche devono essere autorizzate dall'autorità competente.

CONSERVAZIONE

Se non è diversamente indicato, conservare a temperatura ambiente.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso, la quantità totale del o dei principi attivi per cerotto, la dose rilasciata nell'unità di tempo e l'area della superficie di rilascio.

0478

COMPRESSE

Compressae

Le specifiche di questa monografia non si applicano necessariamente a preparazioni presentate come compresse destinate ad uso diverso dalla somministrazione orale. Le specifiche per tali preparazioni si possono trovare, quando appropriato, in altre monografie generali, per esempio: Preparazioni rettali (1145), Preparazioni vaginali (1164) e Preparazioni oromucosali (1807). Questa monografia non si applica a tavolette, liofilizzati, paste e gomme per uso orale. Se giustificato e autorizzato, le specifiche di questa monografia non si applicano alle compresse per uso veterinario.

DEFINIZIONE

Le compresse sono preparazioni solide contenenti ciascuna una dose unica di uno o più principi attivi e ottenute usualmente per compressione di volumi uniformi di particelle. Sono destinate alla somministrazione orale. Alcune vengono inghiottite intere, alcune dopo essere state masticate, altre sono disciolte o disperse in acqua prima della somministrazione e altre ancora sono tenute in bocca, dove viene liberato il principio attivo.

Le particelle sono formate da uno o più componenti attivi con o senza eccipienti come diluenti, leganti, disaggreganti, sostanze atte a favorire lo scorrimento, lubrificanti, sostanze in grado di modificare il comportamento della preparazione nel tubo digerente, coloranti autorizzati e aromatizzanti.

Le compresse sono di norma cilindri solidi regolari, con le superfici di base piane o convesse e con i bordi che

possono essere smussati. Possono avere linee o segni di rottura e possono portare un simbolo o altri marchi. Possono essere rivestite.

Quando richiesto, i contenitori per compresse soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori (3.1. e sottosezioni)* e *Contenitori (3.2. e sottosezioni)*.

Si possono distinguere varie categorie di compresse per uso orale:

- compresse non rivestite,
- compresse rivestite,
- compresse effervescenti,
- compresse solubili,
- compresse dispersibili,
- compresse orodispersibili,
- compresse a rilascio modificato,
- compresse gastroresistenti,
- compresse da utilizzare nella cavità buccale.

PRODUZIONE

Le compresse sono preparate usualmente per compressione di volumi uniformi di particelle o di aggregati di particelle ottenuti per granulazione. Nella produzione di compresse si adottano opportune misure atte ad assicurare che abbiano sufficiente resistenza meccanica per evitare sbriciolamenti o rotture nelle manipolazioni o trattamenti successivi. Questo può essere dimostrato per mezzo dei saggi *Friabilità delle compresse non rivestite (2.9.7)* e *Resistenza alla rottura delle compresse (2.9.8)*. Le compresse masticabili sono preparate in modo da assicurare che vengano facilmente rotte masticando.

Le compresse possono avere uno o più segni di rottura in modo tale che le compresse stesse possono essere suddivise in parti sia per facilitare l'assunzione del medicinale che per adeguare la posologia. In quest'ultimo caso la suddivisione deve essere valutata ed autorizzata dalla competente autorità. Per far sì che il paziente riceva la dose prescritta, deve essere valutata, durante il processo di sviluppo del prodotto, l'adeguatezza dei segni di rottura nei confronti dell'uniformità di massa delle parti suddivise.

Ogni dose autorizzata deve soddisfare al seguente saggio.

Prendere a caso 30 compresse, romperle a mano lungo i segni di rottura per ogni compressa utilizzata per il saggio prendere solo una parte e scartare le altre. Pesare individualmente ciascuna delle 30 parti e calcolare la

massa media. Le compresse soddisfano al saggio se non più di una singola massa è al di fuori dei limiti 85–115 per cento della massa media. Le compresse non soddisfano al saggio se più di una singola massa è fuori dei sopra specificati limiti o se una singola massa è al di fuori dei limiti 75–125 per cento della massa media.

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle compresse si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le compresse soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le compresse con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio A per l'uniformità di contenuto per le preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che rispondono alle condizioni sopracitate.

Se non diversamente giustificato e autorizzato, le compresse rivestite, diverse da quelle rivestite con film, soddisfano al saggio A per l'uniformità di contenuto delle forme farmaceutiche a dose unica, indipendentemente dal loro contenuto in principi attivi.

Uniformità di massa (2.9.5). Le compresse non rivestite e, se non diversamente giustificato e autorizzato, le compresse rivestite con film soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni in dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto o giustificato e autorizzato il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Dissoluzione. Può essere effettuato un idoneo saggio atto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi, per esempio uno dei saggi descritti al *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide* (2.9.3). Se è prescritto un saggio di dissoluzione, può non essere richiesto un saggio di disaggregazione.

Compresse non rivestite

DEFINIZIONE

Le compresse non rivestite comprendono compresse a singolo strato, risultanti da una singola compressione di particelle e compresse multistrato costituite da strati concentrici o paralleli ottenuti per successiva compressione di particelle di differente composizione. Gli eccipienti usati non sono specificamente intesi a modificare il rilascio del principio attivo nei fluidi digestivi.

Le compresse non rivestite sono conformi alla definizione generale di compresse. Una sezione, esaminata mediante una lente, mostra o una struttura relativamente uniforme (compresse monostrato) o una struttura stratificata (compresse multistrato) ma nessun segno di rivestimento.

SAGGI

Disaggregazione. Le compresse non rivestite soddisfano al saggio per la disaggregazione di compresse e capsule (2.9.1). Utilizzare come liquido *acqua R*. Mettere un disco in ciascun tubo. Se non diversamente giustificato e autorizzato, azionare l'apparecchio per 15 min, ed esaminare lo stato delle compresse.

Se le compresse non soddisfano al saggio a causa dell'aderenza al disco, i risultati non sono validi. Ripetere il saggio su altre sei compresse senza i dischi.

Le compresse masticabili non devono soddisfare al saggio.

Compresse rivestite

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite sono compresse ricoperte con uno o più strati di miscele di varie sostanze come resine naturali o sintetiche, gomme, gelatina, cariche inattive e insolubili, zuccheri, plastificanti, polioli, cere, coloranti autorizzati e talvolta aromatizzanti e principi attivi. Le sostanze usate come rivestimento sono di norma applicate come soluzione o sospensione in condizioni in cui si abbia evaporazione del veicolo. Quando il rivestimento è costituito da uno strato polimerico molto sottile, le compresse sono dette compresse rivestite con film.

Le compresse rivestite hanno una superficie liscia che è spesso colorata e può essere lucidata; una sezione, esaminata mediante una lente, mostra un nucleo circondato da uno o più strati continui con differente struttura.

PRODUZIONE

Se giustificato, l'uniformità di massa o l'uniformità di contenuto di compresse rivestite, diverse da quelle rivestite con film, può essere assicurata per mezzo del controllo dei nuclei.

SAGGI

Disaggregazione. Le compresse rivestite, ma non quelle rivestite con film, soddisfano al saggio per la disaggregazione di compresse e capsule (2.9.1). Utilizzare come liquido *acqua R*. Mettere un disco in ciascun tubo. Azionare l'apparecchio per 60 min, se non diversamente giustificato e autorizzato, ed esaminare lo stato delle compresse. Se qualcuna delle compresse non è disaggregata, ripetere il saggio su altre sei compresse, sostituendo l'*acqua R* con *acido cloridrico 0,1 M*.

Le compresse rivestite con film soddisfano al saggio di disaggregazione prescritto per le compresse non rivestite, con la differenza che, se non è diversamente giustificato e autorizzato, si aziona l'apparecchio per 30 min.

Se le compresse rivestite o rivestite con film non soddisfano al saggio per l'aderenza ai dischi, i risultati non sono validi. Ripetere il saggio su altre sei compresse, senza i dischi.

Le compresse rivestite masticabili non devono soddisfare al saggio.

Compresse effervescenti

DEFINIZIONE

Le compresse effervescenti sono compresse non rivestite contenenti generalmente sostanze acide e carbonati o bicarbonati che reagiscono rapidamente in presenza di acqua sviluppando anidride carbonica. Sono destinate ad essere disciolte o disperse in acqua prima della somministrazione.

SAGGI

Disaggregazione. Porre una compressa in un recipiente contenente 200 ml di *acqua R* a 15-25 °C: si svolgono numerose bolle di gas. Quando cessa l'effervescenza intorno alla compressa o ai suoi frammenti, la compressa è disaggregata, essendo o dispersa o disciolta nell'acqua, così che non rimangono agglomerati di particelle. Ripetere l'operazione su altre cinque compresse. Se non diversamente giustificato e autorizzato, le compresse soddisfano al saggio se ciascuna delle sei compresse utilizzate si disaggrega nella maniera prescritta entro 5 min.

Compresse solubili

DEFINIZIONE

Le compresse solubili sono compresse non rivestite o rivestite con film. Sono destinate ad essere disciolte in acqua prima della somministrazione. La soluzione ottenuta può essere leggermente opalescente a causa degli additivi utilizzati nella produzione delle compresse.

SAGGI

Disaggregazione. Le compresse solubili si disaggregano entro 3 min quando sono sottoposte al saggio per la disaggregazione delle compresse e delle capsule (2.9.1) ma usando *acqua R* a 15-25 °C.

Compresse dispersibili

DEFINIZIONE

Le compresse dispersibili sono compresse non rivestite o rivestite con film destinate ad essere disperse in acqua prima della somministrazione dando una dispersione omogenea.

SAGGI

Disaggregazione. Le compresse dispersibili si disaggregano entro 3 min quando sono sottoposte al saggio per la disaggregazione delle compresse e delle capsule (2.9.1) ma usando *acqua R* a 15-25 °C.

Finezza della dispersione. Porre due compresse in 100 ml di *acqua R* e agitare finché sono completamente

disperse. Si ottiene una dispersione omogenea, che passa attraverso un setaccio con apertura nominale delle maglie di 710 µm.

Compresse orodispersibili

DEFINIZIONE

Le compresse orodispersibili sono compresse non rivestite destinate ad essere poste nella bocca dove si disperdono rapidamente prima di essere inghiottite.

SAGGI

Disaggregazione. Le compresse orodispersibili si disaggregano entro 3 min quando vengono sottoposte al saggio per la disaggregazione di compresse e capsule (2.9.1).

Compresse a rilascio modificato

DEFINIZIONE

Le compresse a rilascio modificato sono compresse rivestite o non, contenenti eccipienti speciali o preparate con procedimenti speciali che, separatamente o insieme, sono studiati per modificare la velocità, il sito o il tempo al quale il o i principi attivi sono rilasciati.

Le compresse a rilascio modificato comprendono compresse a rilascio prolungato, a rilascio ritardato, a rilascio pulsatile.

PRODUZIONE

Si effettua un saggio opportuno per dimostrare l'appropriateo rilascio del o dei principi attivi.

Compresse gastroresistenti

DEFINIZIONE

Le compresse gastroresistenti sono compresse a rilascio ritardato preparate per resistere al fluido gastrico e rilasciare il o i loro principi attivi nel fluido intestinale.

Sono preparate rivestendo le compresse con una sostanza gastroresistente (compresse a rivestimento enterico) o da granuli o particelle già ricoperti con un rivestimento gastroresistente.

Le compresse ricoperte con un rivestimento gastroresistente sono conformi alla definizione di compresse rivestite.

PRODUZIONE

Per le compresse preparate da granuli o particelle già ricoperte con rivestimento gastroresistente, si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriateo rilascio del o dei principi attivi.

SAGGI

Disaggregazione. Per le compresse ricoperte con un rivestimento gastroresistente si effettua il saggio per la disaggregazione (2.9.1) con le modifiche seguenti. Usare *acido cloridrico 0,1 M* come liquido; azionare l'apparecchio per 2 h, o altro tempo simile che sia autorizzato, senza i dischi e controllare lo stato delle compresse. Il tempo di resistenza al mezzo acido varia secondo la formulazione delle compresse in esame. Normalmente è di 2-3 h ma, anche con le deroghe autorizzate, non è inferiore a 1 h. Nessuna compressa mostra segni sia di disaggregazione (a parte frammenti di rivestimento) che di rotture che permetterebbero la fuoriuscita dei contenuti. Sostituire l'acido con *tampone fosfato soluzione a pH 6,8 R* e aggiungere un disco in ciascun tubo. Azionare l'apparecchio per 60 min ed esaminare lo stato delle compresse. Se le compresse non soddisfano al saggio a causa dell'aderenza ai dischi, i risultati non sono validi. Ripetere il saggio su altre sei compresse omettendo i dischi.

Dissoluzione. Per compresse preparate da granuli o particelle già rivestite con una sostanza gastroresistente, si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriateo rilascio del/dei principi attivi, per esempio il saggio descritto al *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide* (2.9.3).

Compresse da utilizzare nella cavità buccale

DEFINIZIONE

Le compresse da utilizzare nella cavità buccale sono, di norma, compresse non rivestite. Sono formulate in modo da dare un rilascio lento e azione locale del o dei principi attivi o il rilascio e assorbimento in una zona definita della bocca. Satisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni oromucosali* (1807).

DISPOSITIVI INTRARUMINALI

Praeparationes intraruminales

Le specifiche di questa monografia non si applicano alle preparazioni (talvolta note come boli) quali grosse compresse convenzionali, capsule o forme farmaceutiche ottenute per fusione che danno un rilascio immediato o prolungato di principio/i attivo/i. Tali preparazioni soddisfano alle pertinenti parti delle monografie Compresses (0478) o Capsule (0016).

DEFINIZIONE

I dispositivi intraruminali sono preparazioni solide contenenti uno o più principi attivi. Sono destinati alla somministrazione per via orale ai ruminanti e sono progettati per essere trattiene nel rumine al fine di rilasciare il o i principi attivi in una maniera continua o pulsatile. Il periodo di rilascio del o dei principi attivi può variare da giorni a settimane in funzione della natura della formulazione e/o del dispositivo di rilascio.

I dispositivi intraruminali possono essere somministrati usando un'adatta pistola in grado di rilasciare materiali di forma sferica. Alcuni dispositivi intraruminali sono destinati a galleggiare sulla superficie del fluido ruminale mentre altri sono destinati a rimanere sul fondo del rumine o del reticolo. Ciascun dispositivo ha una densità adatta per il suo scopo.

PRODUZIONE

Per un rilascio continuo, il dispositivo intraruminale è predisposto per il rilascio del o dei principi attivi ad una velocità definita per un periodo stabilito di tempo. Ciò può essere realizzato mediante erosione, corrosione, diffusione, pressione osmotica o ogni altro adatto mezzo chimico, fisico o chimico-fisico.

Per un rilascio pulsatile, il dispositivo intraruminale è progettato per il rilascio di una quantità specifica del o dei principi attivi ad uno o a più tempi intermedi stabiliti. Ciò può essere realizzato mediante corrosione degli elementi metallici del dispositivo intraruminale ad opera dei fluidi ruminali, con conseguente rilascio sequenziale delle unità costituenti che sono generalmente sotto forma di compresse.

Nella produzione dei dispositivi intraruminali si adottano misure atte ad assicurare un appropriato rilascio dei principi attivi.

Nella produzione, confezionamento, conservazione e distribuzione dei dispositivi intraruminali, si adottano misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le unità costituenti i dispositivi intraruminali soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Tali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente giustificato e autorizzato, le unità (comprese) costituenti i dispositivi intraruminali con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio A per l'uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica. Se la preparazione contiene più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi attivi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Se non diversamente giustificato e autorizzato, le unità costituenti i dispositivi intraruminali soddisfano al saggio per l'uniformità di massa. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- per i dispositivi a rilascio continuo, la dose rilasciata per unità di tempo,
- per i dispositivi a rilascio pulsatile, la dose rilasciata a tempi stabiliti.

1239

GOMME DA MASTICARE MEDICATE

Masticabilis cummis medicata

DEFINIZIONE

Le gomme da masticare medicate sono preparazioni solide a dose unica con una base costituita essenzialmente da gomma, destinate ad essere masticate ma non inghiottite.

Contengono uno o più principi attivi che vengono rilasciati con la masticazione. Dopo dissoluzione o dispersione dei principi attivi nella saliva, le gomme da masticare sono destinate:

- al trattamento locale di affezioni della cavità buccale,
- all'azione sistemica dopo assorbimento attraverso la mucosa buccale o attraverso il tratto gastrointestinale.

PRODUZIONE

Le gomme da masticare medicate sono prodotte con una base di gomma da masticare insapore costituita da elastomeri naturali o sintetici. Esse possono contenere altri eccipienti come agenti di riempimento, emollienti, edulcoranti, aromatizzanti, stabilizzanti, plastificanti e sostanze coloranti autorizzate.

Le gomme da masticare medicate sono prodotte per compressione o rammollimento o fusione delle basi di gomma e successiva aggiunta di altre sostanze. In questo ultimo caso, le gomme da masticare sono trattate ulteriormente per ottenere l'aspetto desiderato. Le gomme da masticare medicate, se necessario, possono essere ricoperte ad esempio per proteggerle dall'umidità e dalla luce.

Se non diversamente giustificato ed autorizzato, viene effettuato un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi. Al riguardo può essere usato il metodo *Rilascio di farmaci da gomme da masticare medicate* (2.9.25)

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle gomme da masticare medicate, si adottano misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le gomme da masticare medicate soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Tali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le gomme da masticare medicate con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio A per l'uniformità di contenuto delle forme farmaceutiche a dose unica. Se la preparazione contiene più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi attivi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le gomme da masticare medicate non rivestite e, se non diversamente giustificato ed autorizzato, le gomme da masticare medicate rivestite soddisfano al saggio per l'uniformità di massa delle preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

CONSERVAZIONE

Conservare le gomme da masticare medicate non rivestite protette dall'umidità e dalla luce.

0492

GRANULATI

Granulata

Le specifiche per i granulati da usare per la preparazione di soluzioni o sospensioni orali sono date nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672). Se giustificato ed autorizzato, le specifiche della presente monografia non si applicano ai granulati per uso veterinario.

DEFINIZIONE

I granulati sono preparazioni solide costituite da aggregati solidi, secchi, di particelle di polvere, sufficientemente resistenti a manipolazioni energiche. Sono destinati alla somministrazione orale. Possono essere deglu-

titi come tali, masticati oppure disciolti o dispersi in acqua o in altro liquido adatto prima di essere somministrati.

I granulati contengono uno o più principi attivi con o senza eccipienti e, se necessario, coloranti autorizzati o sostanze aromatizzanti.

I granulati sono presentati come preparazioni a dose unica o multidose. Ciascuna dose di una preparazione multidose viene dispensata per mezzo di un misurino atto a prelevare la quantità prescritta. Per i granulati a dose unica, ogni dose è racchiusa in un contenitore individuale, per esempio un sacchetto o un flaconcino.

Se del caso, i contenitori per granulati soddisfano alle specifiche per i *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2. e sottosezioni).

Si possono distinguere varie categorie di granulati:

- granulati effervescenti,
- granulati rivestiti,
- granulati a rilascio modificato,
- granulati gastroresistenti.

PRODUZIONE

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione di granulati si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. I granulati a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, i granulati a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto di preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). I granulati a dose unica, con eccezione dei granulati rivestiti, soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Uniformità di massa delle dosi rilasciate da contenitori multidose (2.9.27). I granulati forniti in recipienti multidose soddisfano al saggio.

CONSERVAZIONE

Se la preparazione contiene componenti volatili o se i contenuti devono essere particolarmente protetti, conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Granulati effervescenti

DEFINIZIONE

I granulati effervescenti sono granulati non rivestiti contenenti generalmente sostanze acide e carbonati o bicarbonati che reagiscono rapidamente in presenza di acqua sviluppando anidride carbonica. Sono preparati per essere disciolti o dispersi in acqua prima della somministrazione.

SAGGI

Disaggregazione. Porre una dose di granulato effervescente in un recipiente contenente 200 ml di *acqua R* a 15-25 °C: si sviluppano numerose bolle di gas. Quando cessa l'effervescenza intorno ai singoli granuli, questi si sono disaggregati, essendo disciolti oppure dispersi nell'acqua. Ripetere l'operazione su altre cinque dosi. La preparazione soddisfa al saggio se ciascuna delle sei dosi utilizzate disaggrega entro 5 min.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Granulati rivestiti

DEFINIZIONE

I granulati rivestiti sono generalmente preparazioni multidose costituite da granuli rivestiti da uno o più strati di miscele di vari eccipienti.

PRODUZIONE

Le sostanze usate per il rivestimento sono di norma applicate come soluzione o sospensione in condizioni che favoriscono l'evaporazione del solvente.

SAGGI

Dissoluzione. Può essere effettuato un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi, per esempio uno dei saggi descritti al *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3)*.

Granulati gastroresistenti

DEFINIZIONE

I granulati gastroresistenti sono granulati a rilascio ritardato preparati in modo che resistano al fluido gastrico e rilascino il o i principi attivi nel fluido intestinale. Queste proprietà si ottengono ricoprendo i granulati con una sostanza gastroresistente (granulati a rivestimento enterico) o con altri idonei mezzi.

PRODUZIONE

Si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi.

SAGGI

Dissoluzione. Effettuare un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi, per esempio il saggio descritto al *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3)*.

Granulati a rilascio modificato

1166

DEFINIZIONE

I granulati a rilascio modificato sono granulati rivestiti o non rivestiti, che contengono eccipienti speciali o che sono preparati con procedimenti speciali o entrambi, studiati per modificare la velocità, il sito o il tempo al quale il o i principi attivi sono rilasciati.

I granulati a rilascio modificato comprendono granulati a rilascio prolungato e granulati a rilascio ritardato.

PRODUZIONE

Si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi.

SAGGI

Dissoluzione. Effettuare un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi, per esempio il saggio descritto al *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3)*.

POLVERI PER APPLICAZIONE CUTANEA

Pulveres ad usum dermicum

Se giustificato e autorizzato, le specifiche di questa monografia non si applicano a polveri per applicazione cutanea destinate all'uso veterinario.

DEFINIZIONE

Le polveri per applicazione cutanea sono preparazioni costituite da particelle solide, non aggregate, secche, di vari gradi di finezza. Contengono uno o più principi attivi, con o senza eccipienti e, se necessario, coloranti autorizzati dall'autorità competente.

Le polveri per applicazione cutanea si presentano come polveri a dose unica o come multidose; sono prive di granulosità. Le polveri indicate specificamente per l'uso su larghe ferite aperte o su cute gravemente lesa sono sterili.

Le polveri per applicazione cutanea multidose possono essere dispensate in contenitori spargitalco, in contenitori dotati di un sistema spruzzatore meccanico o in contenitori pressurizzati.

Le polveri dispensate in contenitori pressurizzati soddisfano alle specifiche delle *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate (0523)*.

Se del caso, i contenitori per polveri soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori (3.1. e sottosezioni)* e *Contenitori (3.2. e sottosezioni)*.

PRODUZIONE

Nella produzione di polveri per applicazione cutanea, si adottano misure atte ad assicurare una dimensione particellare compatibile con l'uso previsto. Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle polveri per applicazione cutanea, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

Le polveri per applicazione cutanea sterili si preparano usando materiali e metodi atti ad assicurare la sterilità ed evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili (5.1.1)*.

SAGGI

Finezza. Se prescritto, la finezza di una polvere si determina per setacciatura (2.9.35) o con altro metodo appropriato.

Uniformità delle unità di dosaggio.

Le dosi (uniche) di polveri per applicazione cutanea soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le polveri per applicazione cutanea a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto per le preparazioni a dose

unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica a quei principi attivi che corrispondono alle condizioni sopra citate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le polveri per applicazione cutanea a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa delle preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Sterilità (2.6.1). Quando l'etichetta indica che la preparazione è sterile, questa soddisfa al saggio di sterilità.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- che la preparazione è per uso esterno,
- se del caso, che la preparazione è sterile.

1165

POLVERI PER USO ORALE

Pulveres perorales

Le specifiche per le polveri da usare per la preparazione di soluzioni o sospensioni orali sono date nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672). Se giustificato ed autorizzato, le specifiche di questa monografia non si applicano alle polveri per uso orale destinate all'uso veterinario.

DEFINIZIONE

Le polveri per uso orale sono preparazioni costituite da particelle solide, non aggregate, asciutte e di vari gradi di finezza. Contengono uno o più principi attivi, con o senza eccipienti e, se necessario, coloranti autorizzati e aromatizzanti. Sono generalmente somministrate in o con acqua o altro liquido adatto. Possono anche essere ingerite direttamente. Sono presentate come preparazioni a dose unica o multidose.

Se del caso, i contenitori per le polveri per uso orale soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori (3.1. e sottosezioni)* e *Contenitori (3.2. e sottosezioni)*.

Le polveri orali multidose richiedono la fornitura di un misurino in grado di dare la quantità prescritta. Ogni

dose di una polvere a dose unica è racchiusa in un contenitore singolo, per esempio un sacchetto o un flaconcino.

PRODUZIONE

Nella produzione di polveri per uso orale, si adottano misure atte a garantire una dimensione particellare adatta all'uso previsto.

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle polveri per uso orale, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le polveri per uso orale a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le polveri orali a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto per le preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le polveri orali a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Uniformità di massa delle dosi rilasciate da contenitori multidose (2.9.27). Le polveri orali fornite in recipienti multidose soddisfano al saggio.

CONSERVAZIONE

Se la preparazione contiene componenti volatili o il contenuto deve essere protetto, conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

Polveri effervescenti

DEFINIZIONE

Le polveri effervescenti si presentano come preparazioni a dose unica o multidose e generalmente contengono sostanze acide e carbonati o bicarbonati che reagiscono rapidamente in presenza di acqua liberando anidride carbonica. Sono preparate per essere disciolte o disperse in acqua prima della somministrazione.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso.

1037

PREMISCELE PER MANGIMI MEDICATI PER USO VETERINARIO

Praeadmixta ad alimenta medicata
ad usum veterinarium

DEFINIZIONE

Le premiscele per alimenti medicati per uso veterinario sono miscele di uno o più principi attivi, di norma in appropriati eccipienti, preparate per facilitare la somministrazione di principi attivi agli animali. Vengono usate esclusivamente nella preparazione di mangimi medicati.

Si presentano sotto forma di granulati, polveri, preparazioni semisolide o liquide. Utilizzate come polveri o granulati sono facilmente scorrevoli ed omogenee; qualsiasi aggregato si sbriciola durante la normale manipolazione. In forma liquida, sono soluzioni o sospensioni omogenee che possono essere ottenute da gel tissotropici o da liquidi strutturati. La dimensione delle particelle ed altre caratteristiche sono tali da garantire una uniforme distribuzione del/dei principi attivi nell'alimento finale. Se non diversamente giustificato e autorizzato, le istruzioni per l'uso stabiliscono che la concentrazione di una premiscela in forma di polvere o di granulato sia almeno 0,5 per cento del mangime medicato.

PRODUZIONE

Principio attivo. Un principio attivo destinato ad essere incorporato in una miscela medicata soddisfa alle specifiche della pertinente monografia della Farmacopea Europea, se non diversamente giustificato e autorizzato per premiscele già esistenti.

SAGGI

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Se non diversamente giustificato e autorizzato, per premiscele sotto forma di granulato o di polvere, massimo 15,0 per cento, determinata su 3,000 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C per 2 h.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- la specie animale alla quale è destinata la miscela,
- le istruzioni per la preparazione degli alimenti medicati dalla premiscela e dagli alimenti di base,
- se del caso, il tempo che deve intercorrere fra la sospensione della somministrazione del mangime medicato e il prelievo del materiale da utilizzare per l'alimentazione umana.

0652

PREPARAZIONI AURICOLARI

Auricularia

DEFINIZIONE

Le preparazioni auricolari sono preparazioni liquide, semisolide o solide da instillare, spruzzare, insufflare, applicare nel meato uditivo oppure da usare come lavaggio dell'orecchio.

Contengono, di solito, uno o più principi attivi in un veicolo adatto. Possono contenere eccipienti, per esempio per regolare la tonicità o la viscosità, per regolare o stabilizzare il pH, per aumentare la solubilità dei principi attivi, per stabilizzare la preparazione oppure per assicurare adeguate proprietà antimicrobiche. Gli eccipienti non influenzano negativamente l'azione

farmacologica della preparazione e, alle concentrazioni d'uso, non causano tossicità o irritazione locale eccessiva.

Le preparazioni da applicare all'orecchio leso, specialmente se il timpano è perforato oppure prima di un intervento chirurgico, sono sterili, prive di antimicrobici e confezionate a dose unica.

Le preparazioni auricolari sono fornite in contenitori multidose o a dose singola dotati, se necessario, di un adatto dispositivo di somministrazione che può essere studiato per evitare l'introduzione di contaminanti.

Se non diversamente giustificato e autorizzato, le preparazioni auricolari acquose confezionate in contenitori multidose contengono un adatto antimicrobico in concentrazione appropriata, a meno che la preparazione non abbia di per sé adeguate proprietà antimicrobiche.

Se del caso, i contenitori per preparazioni auricolari soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori (3.1 e sottosezioni)* e *Contenitori (3.2 e sottosezioni)*.

Si possono distinguere varie categorie di preparazioni auricolari:

- gocce e spray auricolari,
- preparazioni auricolari semisolide,
- polveri auricolari,
- lavaggi auricolari,
- tamponi auricolari.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione auricolare, la cui formulazione contenga un antimicrobico, dovrà essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente la necessità dell'uso e l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo insieme con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione sono riportati nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica (5.1.3)*.

Nello sviluppo delle preparazioni auricolari deve essere dimostrato che nel caso di preparazioni presentate in recipienti a dose unica può essere prelevato dal contenitore tutto il contenuto nominale.

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione di preparazioni auricolari si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

Le preparazioni auricolari sterili si preparano utilizzando materiali e metodi in grado di assicurare sterilità e di evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili (5.1.1)*.

Nella produzione di preparazioni auricolari che contengono particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le preparazioni auricolari a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le preparazioni auricolari a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto di preparazioni a dose unica. Se la preparazione contiene più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le preparazioni auricolari a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa delle preparazioni a dose unica. Se è prescritto per tutti i principi attivi il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Sterilità (2.6.1). Quando l'etichetta indica che la preparazione è sterile, questa soddisfa al saggio di sterilità.

CONSERVAZIONE

Se la preparazione è sterile, conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto,
- se del caso, che la preparazione è sterile,

- per contenitori multidose, il periodo dopo l'apertura del contenitore dopo il quale i contenuti non devono essere usati. Se non diversamente giustificato e autorizzato, questo periodo non deve superare 4 settimane.

Gocce e spray auricolari

DEFINIZIONE

Gocce e spray auricolari sono soluzioni, emulsioni o sospensioni di uno o più principi attivi in liquidi adatti per essere applicati nel meato uditivo senza esercitare pressione dannosa sul timpano (per esempio, acqua, glicoli od oli grassi). Possono essere posti nel meato uditivo anche per mezzo di un tampone impregnato con il liquido.

Le emulsioni possono mostrare segni di separazione di fase, ma sono facilmente ridisperse per agitazione. Le sospensioni possono avere un sedimento che viene con facilità nuovamente disperso per agitazione per dare una sospensione stabile abbastanza da consentire la dispensazione della corretta dose.

Le gocce auricolari sono generalmente fornite in contenitori multidose di vetro o di adatto materiale plastico dotati di un contagocce incorporato o con tappo a vite di materiali opportuni provvisto di un contagocce con pompetta in gomma o plastica. In alternativa, questo sistema viene fornito separatamente. Gli spray sono generalmente forniti in contenitori multidose dotati di un opportuno applicatore. Quando gli spray sono forniti in contenitori pressurizzati, questi soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate (0523)*.

Preparazioni auricolari semisolide

DEFINIZIONE

Le preparazioni auricolari semisolide si applicano al meato uditivo esterno, se necessario per mezzo di un tampone impregnato con la preparazione.

Le preparazioni auricolari semisolide soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*.

Sono fornite in contenitori dotati di opportuno applicatore.

Polveri auricolari

DEFINIZIONE

Le polveri auricolari soddisfano ai requisiti della monografia *Polveri per applicazione cutanea (1166)*.

Sono fornite in contenitori provvisti di un dispositivo adatto per applicazione o insufflazione.

Lavaggi auricolari

DEFINIZIONE

I lavaggi auricolari sono preparazioni destinate alla pulizia del meato uditivo esterno. Solitamente sono soluzioni acquose con un pH entro i limiti fisiologici. Se sono destinati ad applicazioni a parti offese o prima di un intervento chirurgico sono sterili.

Tamponi auricolari

DEFINIZIONE

I tamponi auricolari sono destinati ad essere introdotti nel meato uditivo esterno. Soddisfano alle specifiche della monografia *Tamponi medicati (1155)*.

0523

PREPARAZIONI FARMACEUTICHE PRESSURIZZATE

Praeparationes pharmaceuticae in vasis cum pressu

Ulteriori specifiche per le preparazioni presentate in contenitori pressurizzati si possono trovare in altre monografie generali, per esempio: Preparazioni per inalazione (0671), Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927), Polveri per applicazione cutanea (1166), Preparazioni nasali (0676) e Preparazioni auricolari (0652).

DEFINIZIONE

Le preparazioni farmaceutiche pressurizzate sono presentate in contenitori speciali sotto pressione di un gas e contengono uno o più principi attivi. Le preparazioni vengono rilasciate dal contenitore, per attivazione di

una valvola adatta, nella forma di un aerosol (dispersione in un gas di particelle solide o liquide di dimensioni appropriate all'uso previsto) oppure di uno spruzzo liquido o semisolido, come una schiuma. La pressione per il rilascio è prodotta da adatti propellenti.

Le preparazioni sono costituite da una soluzione, una emulsione o una sospensione e sono destinate all'applicazione locale sulla pelle o sulle mucose di diversi orifizi del corpo o all'inalazione. Possono anche essere usati opportuni eccipienti, per esempio solventi, solubilizzanti, emulsionanti, sospendenti e lubrificanti per la valvola, per prevenire l'intasamento.

Propellenti. I propellenti sono o gas liquefatti sotto pressione o gas compressi o liquidi a basso punto di ebollizione. Gas liquefatti sono, per esempio, idrocarburi fluorurati e idrocarburi a bassa massa molecolare (come propano e butano). Gas compressi sono, per esempio, anidride carbonica, azoto e azoto protossido. Miscele di questi propellenti possono essere usate per ottenere proprietà ottimali di soluzione e caratteristiche auspicabili di pressione, rilascio e spruzzo.

Contenitori. I contenitori sono ermetici e resistenti alla pressione interna e possono essere di metallo, di vetro, di plastica o combinazioni di questi materiali; sono compatibili con i loro contenuti. I contenitori di vetro sono protetti con un rivestimento in plastica.

Dispositivo nebulizzatore. La valvola tiene il contenitore ermeticamente chiuso quando non si usa e regola il rilascio dei contenuti durante l'utilizzazione. Le caratteristiche dello spruzzo sono influenzate dal tipo di dispositivo nebulizzatore, in particolare dalle dimensioni, dal numero e dalla posizione degli orifizi. Alcune valvole consentono una erogazione continua, altre (valvole dosatrici) scaricano una quantità definita di prodotto per ogni attivazione della valvola.

I diversi materiali delle valvole sono compatibili con i contenuti con i quali vengono a contatto.

Specifiche per preparazioni farmaceutiche pressurizzate.

Le preparazioni pressurizzate sono fornite di un dispositivo di rilascio idoneo per l'applicazione prevista.

Specifiche particolari possono essere necessarie per la scelta dei propellenti, per la dimensione delle particelle e per la dose unica erogata dalle valvole dosatrici.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il metodo di uso,
- qualunque precauzione sia necessario prendere,
- per contenitori con valvola dosatrice, la quantità di principio attivo nell'erogazione unitaria.

0945

PREPARAZIONI INTRAMAMMARIE PER USO VETERINARIO

Praeparationes intramammariae
ad usum veterinarium

DEFINIZIONE

Le preparazioni intramammarie per uso veterinario sono preparazioni sterili da introdurre nella ghiandola mammaria attraverso il canale del capezzolo. Esistono due categorie principali: quelle destinate alla somministrazione ad animali in lattazione e quelle destinate alla somministrazione ad animali alla fine della lattazione o ad animali non in lattazione, per il trattamento o la prevenzione di infezioni.

Le preparazioni intramammarie per uso veterinario sono soluzioni, emulsioni, sospensioni o preparazioni semisolide che contengono uno o più principi attivi in un veicolo appropriato. Possono contenere eccipienti quali stabilizzanti, emulsionanti, sospendenti ed addensanti. Le sospensioni possono presentare un sedimento che si disperde facilmente per agitazione. Le emulsioni possono presentare segni di separazione di fase, ma sono facilmente ricostituite per agitazione.

Se non diversamente giustificato ed autorizzato, le preparazioni intramammarie per uso veterinario sono confezionate in contenitori a dose unica per l'introduzione in un solo canale del capezzolo di un animale.

Se confezionate in recipienti multidose, le preparazioni acquose contengono un adatto antimicrobico in concentrazione appropriata, a meno che la preparazione non abbia di per sé adeguate proprietà antimicrobiche. Si devono prendere precauzioni per la somministrazione e per la conservazione tra una somministrazione e la successiva.

Se del caso, i contenitori per le preparazioni intramammarie per uso veterinario soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2. e sottosezioni)

PRODUZIONE

Durante la fase di sviluppo di una preparazione intramammaria per uso veterinario, la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata in

modo esauriente all'autorità competente l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Le preparazioni intramammarie per uso veterinario si preparano utilizzando materiali e metodi in grado di assicurare sterilità e di evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Nella produzione di preparazioni intramammarie per uso veterinario contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

SAGGI

Massa o volume rilasciabile. Spremere la maggiore quantità possibile del contenuto di 10 contenitori, secondo le indicazioni riportate in etichetta. La massa o il volume medio ottenuto non differiscono più del 10 per cento dalla massa o dal volume nominali.

Sterilità (2.6.1). Le preparazioni intramammarie per uso veterinario soddisfano al saggio di sterilità, effettuato con la tecnica della filtrazione su membrana o, in casi giustificati, con inoculazione diretta del mezzo di coltura. Spremere il contenuto di dieci contenitori e mescolare accuratamente. Per ciascun mezzo di coltura utilizzare 0,5-1 g (oppure, secondo il caso, 0,5-1 ml) prelevati dal campione miscelato.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome del o dei principi attivi e la massa oppure il numero di Unità Internazionali del o dei principi attivi che è possibile estrarre dal contenitore con tecnica usuale,
- se la preparazione è destinata ad animali in lattazione o non in lattazione,
- nel caso di contenitori multidose, il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

PREPARAZIONI INTRAUTERINE PER USO VETERINARIO

Praeparationes intra-uterinae
ad usum veterinarium

DEFINIZIONE

Le preparazioni intrauterine per uso veterinario sono preparazioni liquide, semi-solide o solide destinate ad essere somministrate direttamente nell'utero (cervice, cavità o fondo), generalmente con lo scopo di ottenere una azione locale. Esse contengono una o più sostanze attive in un eccipiente appropriato.

Se del caso, i contenitori destinati alle preparazioni intrauterine per uso veterinario soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2 e sottosezioni).

Diverse categorie di preparazioni intrauterine per uso veterinario possono essere distinte:

- compresse intrauterine,
- capsule intrauterine,
- soluzioni, emulsioni e sospensioni intrauterine e concentrati per soluzioni intrauterine,
- compresse per soluzioni e sospensioni intrauterine,
- preparazioni intrauterine semisolide,
- schiume intrauterine,
- bastoncini intrauterini.

PRODUZIONE

Durante la fase di sviluppo delle preparazioni intrauterine per uso veterinario, la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Nella produzione, confezionamento, conservazione e distribuzione delle preparazioni intrauterine per uso veterinario, vengono prese misure atte ad assicurare la

qualità microbiologica del prodotto; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4, Categoria 2).

Le preparazioni intrauterine per uso veterinario sterili si preparano utilizzando materiali e metodi in grado di assicurare sterilità e di evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Durante la fase di sviluppo delle preparazioni intrauterine per uso veterinario liquide e semisolide fornite in contenitori a dose unica deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dal contenitore.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le preparazioni intrauterine per uso veterinario a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio della uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti nella forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le preparazioni solide a dose unica con un contenuto di principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio A (compresse intrauterine) o al saggio B (capsule intrauterine) per l'uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica. Se la preparazione contiene più di un principio attivo, il saggio si applica solo per quelle sostanze che corrispondono alle condizioni sopra indicate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le preparazioni intrauterine solide a dose unica per uso veterinario soddisfano al saggio per l'uniformità di massa delle preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto o giustificato e autorizzato il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Dissoluzione. Nel caso di preparazioni intrauterine per uso veterinario solide a dose unica, può essere effettuato un saggio appropriato per dimostrare che il rilascio del o dei principi attivi è soddisfacente, per esempio uno dei saggi descritti nel testo *Saggio di dissoluzione delle forme farmaceutiche solide* (2.9.3).

Quando è prescritto un saggio di dissoluzione, un saggio di disintegrazione può non essere richiesto.

Sterilità (2.6.1). Le preparazioni intrauterine per uso veterinario sterili soddisfano al saggio di sterilità. Gli “applicatori” forniti con la preparazione soddisfano anch’essi al saggio di sterilità.

Rimuovere l’applicatore dal suo imballaggio in condizioni asettiche e trasferirlo in una provetta contenente il mezzo di cultura in modo tale che esso sia completamente immerso. Incubare e interpretare i risultati come descritto nel saggio della sterilità.

ETICHETTE

L’etichetta indica:

- il nome di ogni conservante antimicrobico aggiunto,
- se del caso che la preparazione è sterile.

Compresse intrauterine

DEFINIZIONE

Le compresse intrauterine sono preparazioni solide contenenti ciascuna una dose unica di 1 o più principi attivi. Generalmente soddisfano alla definizione data nella monografia *Compresse (0478)*.

Un adatto applicatore può essere utilizzato per l’applicazione nell’utero.

SAGGI

Disintegrazione. A meno che non siano destinate ad una azione locale prolungata, soddisfano al saggio per la disintegrazione delle supposte e ovuli (2.9.2). Se non diversamente giustificato e autorizzato, esaminare lo stato delle compresse dopo 30 minuti.

Capsule intrauterine

DEFINIZIONE

Le capsule intrauterine sono preparazioni solide a dose unica.

Sono generalmente simili alle capsule molli, differiscono solo per la forma e le dimensioni. Le capsule intrauterine hanno forme diverse, usualmente ovoidali, sono lisce e il loro aspetto esterno è uniforme.

Un adatto applicatore può essere utilizzato per l’applicazione nell’utero.

SAGGI

Disintegrazione. A meno che non siano destinate ad una azione locale prolungata, soddisfano al saggio per la disintegrazione delle supposte e ovuli (2.9.2). Se non diversamente giustificato e autorizzato, esaminare lo stato delle capsule dopo 30 minuti.

Soluzioni, sospensioni ed emulsioni intrauterine Concentrati per soluzioni intrauterine

DEFINIZIONE

Le soluzioni, sospensioni ed emulsioni intrauterine sono preparazioni liquide. I concentrati per soluzioni intrauterine devono essere somministrate dopo diluizione.

Possono contenere eccipienti destinati, per esempio, ad aggiustare viscosità della preparazione, correggere o stabilizzare il pH, ad aumentare la solubilità del o dei principi attivi o a stabilizzare la preparazione. Gli eccipienti non influenzano l’attività medicamentosa prevista o, alle concentrazioni utilizzate, non provocano irritazione locale.

Le emulsioni intrauterine possono presentare segni evidenti di separazione di fasi, ma sono facilmente ridisperse per agitazione.

Le sospensioni intrauterine possono presentare un sedimento che è facilmente disperso per agitazione in modo da ottenere una sospensione sufficientemente stabile da consentire la somministrazione di una preparazione omogenea.

Le soluzioni, emulsioni e sospensioni intrauterine possono essere fornite in contenitori per dose unica. Il contenitore è di forma adeguata per somministrare la preparazione nell’utero oppure può essere fornito di un adeguato applicatore.

PRODUZIONE

Nella fabbricazione di sospensioni intrauterine si adottano misure atte ad assicurare che la dimensione delle particelle sia adeguata e controllata in relazione all'uso previsto.

Compresse per soluzioni e sospensioni intrauterine

DEFINIZIONE

Le compresse destinate alla preparazione di soluzioni o sospensioni intrauterine sono preparazioni a dose unica da dissolvere o disperdere nell'acqua al momento della somministrazione. Esse possono contenere eccipienti al fine di facilitare la dissoluzione o la dispersione o a prevenire l'aggregazione delle particelle.

Le compresse per soluzioni o sospensioni intrauterine sono conformi con la definizione data nella monografia *Compresse (0478)*.

Dopo dissoluzione o sospensione, la preparazione soddisfa, secondo il caso, ai requisiti della soluzione o della sospensione intrauterine.

SAGGI

Disintegrazione. Le compresse per soluzioni o sospensioni intrauterine si disintegrano entro 3 minuti quando analizzate con il saggio per la disintegrazione delle compresse e delle capsule (2.9.1), ma utilizzando acqua R a 15-25 °C.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il metodo di preparazione delle soluzioni o sospensioni intrauterine,
- le condizioni e la durata di conservazione della soluzione o sospensione dopo la ricostituzione.

Preparazioni intrauterine semisolide

Le preparazioni semisolide per uso intrauterino sono unguenti, creme o gel.

Le preparazioni semisolide per uso intrauterino soddisfano ai requisiti della monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*.

Esse sono generalmente fornite in contenitori a dose unica. Il contenitore è di forma adeguata per somministrare la preparazione nell'utero oppure può essere fornito di un appropriato applicatore.

Schiume intrauterine

DEFINIZIONE

Le schiume intrauterine soddisfano ai requisiti della monografia *Schiume medicate (1105)*.

Sono fornite in contenitori multidose. Il contenitore è di forma adeguata per somministrare la preparazione nell'utero oppure può essere fornito di un appropriato applicatore.

Bastoncini intrauterini

DEFINIZIONE

I bastoncini intrauterini soddisfano ai requisiti della monografia *Bastoncini (1154)*. Essi spesso producono una schiuma quando entrano in contatto con fluidi fisiologici.

0927

PREPARAZIONI LIQUIDE PER APPLICAZIONE CUTANEA

Praeparationes liquidae ad usum dermicum

Se giustificato ed autorizzato, le specifiche di questa monografia non si applicano alle preparazioni destinate all'uso sistemico e veterinario.

DEFINIZIONE

Le preparazioni liquide per applicazione cutanea sono preparazioni di diversa viscosità destinate al rilascio

locale o transdermico delle sostanze attive. Sono soluzioni, emulsioni o sospensioni che possono contenere uno o più principi attivi in un adatto veicolo. Possono contenere idonei antimicrobici, antiossidanti e altri eccipienti, quali stabilizzanti, emulsionanti e addensanti.

Le emulsioni possono presentare segni di separazione di fase, ma sono facilmente ricostituite per agitazione. Le sospensioni possono presentare un sedimento che si disperde facilmente dopo agitazione per dare una sospensione che è sufficientemente stabile da permettere la somministrazione di una preparazione omogenea.

Se del caso, i contenitori per preparazioni liquide per applicazione cutanea soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1. e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2. e sottosezioni).

Quando le preparazioni liquide per applicazione cutanea sono confezionate in recipienti pressurizzati, i contenitori soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate* (0523).

Le preparazioni destinate specificatamente all'applicazione su cute gravemente lesa sono sterili.

Si possono distinguere varie categorie di preparazioni liquide per applicazione cutanea, per esempio:

- shampoo,
- schiume cutanee.

PRODUZIONE

Durante la fase di sviluppo di una preparazione liquida per applicazione cutanea, la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente la necessità e l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo saggio con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Durante la fase di sviluppo delle preparazioni liquide per applicazione cutanea fornite in contenitori a dose unica deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dal contenitore stesso.

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione di preparazioni liquide per applicazione cutanea, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

Le preparazioni liquide per applicazione cutanea sterili si preparano utilizzando materiali e metodi in grado di assicurare sterilità e di evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Nella produzione di preparazioni liquide per applicazione cutanea contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

SAGGI

Sterilità (2.6.1). Quando l'etichetta indica che la preparazione è sterile, questa soddisfa al saggio di sterilità.

CONSERVAZIONE

Se la preparazione è sterile, conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto,
- se del caso, che la preparazione è sterile.

Shampoo

DEFINIZIONE

Gli shampoo sono preparazioni liquide o, talora, semisolidi destinate all'applicazione sul cuoio capelluto e al successivo risciacquo con acqua. Se agitati con acqua generalmente producono schiuma.

Consistono in emulsioni, sospensioni o soluzioni; normalmente contengono tensioattivi.

Schiume cutanee

DEFINIZIONE

Le schiume cutanee soddisfano alle specifiche della monografia *Schiume medicate* (1105).

0672

PREPARAZIONI LIQUIDE PER USO ORALE

Praeparationes liquidae perorales

Se giustificato ed autorizzato, le specifiche di questa monografia non si applicano a preparazioni liquide per uso orale destinate all'uso veterinario.

DEFINIZIONE

Le preparazioni liquide per uso orale sono generalmente soluzioni, emulsioni o sospensioni che contengono uno o più principi attivi in un veicolo adatto; possono tuttavia essere costituiti da principi attivi liquidi usati come tali (liquidi orali).

Alcune preparazioni liquide per uso orale sono ottenute per diluizione di preparazioni liquide concentrate o da polveri o granulati per la preparazione di soluzioni o sospensioni orali oppure di gocce orali o sciroppi, utilizzando un veicolo adatto.

Il veicolo per ogni preparazione per uso orale è scelto in funzione della natura del o dei principi attivi e per dare caratteristiche organolettiche adatte all'uso previsto della preparazione.

Le preparazioni liquide per uso orale possono contenere adatti antimicrobici, antiossidanti e altri eccipienti come sostanze disperdenti, sospendenti, addensanti, emulsionanti, tamponanti, bagnanti, solubilizzanti, stabilizzanti, aromatizzanti, dolcificanti e coloranti autorizzati dall'autorità competente.

Le emulsioni possono presentare segni di separazione di fase ma sono facilmente ricostituite per agitazione. Le sospensioni possono presentare un sedimento che si disperde facilmente dopo agitazione, per dare una sospensione che rimane sufficientemente stabile da permettere il rilascio della dose corretta.

Se del caso, i contenitori per preparazioni liquide per uso orale soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati per la fabbricazione di contenitori* (3.1. e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2. e sottosezioni).

Si possono distinguere parecchie categorie di preparazioni:

- soluzioni, emulsioni e sospensioni orali,
- polveri e granulati per soluzioni e sospensioni orali,

- gocce per uso orale,
- polveri per gocce orali,
- sciroppi,
- polveri e granulati per sciroppi.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione per uso orale, la cui formulazione contenga un antimicrobico, dovrà essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente la necessità e l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Durante la fase di sviluppo delle preparazioni liquide per uso orale fornite in contenitori a dose unica deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dai contenitori stessi.

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione di preparazioni liquide per uso orale, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

Nella produzione di preparazioni liquide per uso orale contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le soluzioni, sospensioni ed emulsioni fornite in contenitori a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le preparazioni liquide a dose unica costituite da sospensioni soddisfano al saggio seguente. Dopo agitazione, vuotare ciascun contenitore il più quantitativamente possibile ed effettuare il saggio sui singoli contenuti. Questi soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica.

Uniformità di massa. Le preparazioni a dose unica che siano soluzioni o emulsioni soddisfano al saggio seguente: pesare singolarmente il contenuto di venti contenitori, vuotati il più quantitativamente possibile, e determinare la massa media. Non più di due delle masse singole deviano più del 10 per cento dalla massa media e nessuna più del 20 per cento.

Dose e uniformità di dose di gocce orali. In un adatto cilindro graduato introdurre, col contagocce, il numero di gocce usualmente prescritto per una dose, o introdurre col misuratore la quantità usualmente prescritta. La velocità di gocciolamento non supera due gocce al secondo. Pesare il liquido, ripetere l'aggiunta, pesare di nuovo e andare avanti ripetendo l'aggiunta e la pesata fino ad ottenere un totale di dieci masse. Nessuna massa singola devia più del 10 per cento dalla massa media. Il totale delle dieci masse non differisce più del 15 per cento dalla massa nominale di dieci dosi. Se necessario, misurare il volume totale di dieci dosi. Il volume non differisce più del 15 per cento dal volume nominale di dieci dosi.

Uniformità di massa delle dosi rilasciate da contenitori multidose (2.9.27). Le preparazioni liquide per uso orale fornite in recipienti multidose soddisfano al saggio. Non sono soggette a quanto previsto da questo saggio le "gocce orali".

ETICHETTE

L'etichetta indica il nome di ogni conservante antimicrobico aggiunto.

Soluzioni, emulsioni e sospensioni orali

DEFINIZIONE

Le soluzioni, emulsioni e sospensioni orali sono fornite in contenitori unidose o multidose. Ciascuna dose da un contenitore multidose è somministrata per mezzo di un dispositivo adatto a misurare il volume prescritto. Il dispositivo è in genere un cucchiaino o una tazza per volumi di 5 ml o multipli oppure una siringa orale per altri volumi.

Polveri e granulati per soluzioni e sospensioni orali

DEFINIZIONE

Le polveri e i granulati per la preparazione di soluzioni o sospensioni per uso orale generalmente corrispondono alle definizioni date nelle monografie *Polveri per uso orale (1165)* e *Granulati (0499)*, rispettivamente. Possono contenere eccipienti, in particolare per facilitare la dispersione o la dissoluzione e per prevenire la sedimentazione.

Dopo dissoluzione o sospensione, soddisfano alle specifiche per le soluzioni o per le sospensioni orali.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le polveri ed i granulati forniti in contenitori a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le polveri a dose unica e i granulati a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le polveri e i granulati a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il metodo di preparazione della soluzione o sospensione,
- le condizioni e la durata di conservazione dopo la preparazione.

Gocce orali

DEFINIZIONE

Le gocce orali sono soluzioni, emulsioni o sospensioni che vengono somministrate in piccoli volumi, come le gocce, per mezzo di un adatto dispositivo.

ETICHETTE

L'etichetta indica il numero di gocce per millilitro di preparazione o per grammo di preparazione, se la dose è misurata in gocce.

Polveri per gocce orali

DEFINIZIONE

Le polveri per la preparazione di gocce orali generalmente corrispondono alla definizione di *Polveri per uso orale (1165)*. Possono contenere eccipienti per facilitare la dissoluzione o sospensione nel liquido prescritto o per prevenire la sedimentazione.

Dopo dissoluzione o sospensione corrispondono alle specifiche per le gocce orali.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le polveri per gocce orali fornite in contenitori a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le polveri a dose unica per gocce orali con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le polveri a dose unica per gocce orali soddisfano al saggio per l'uniformità di

massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Sciroppi

DEFINIZIONE

Gli sciroppi sono preparazioni acquose caratterizzate da gusto dolce e viscosità elevata. Possono contenere saccarosio ad una concentrazione di almeno il 45 per cento *m/m*. Il gusto dolce può essere ottenuto anche usando altri polioli o dolcificanti. Generalmente gli sciroppi contengono sostanze aromatiche o aromatizzanti. Ciascuna dose da un contenitore multidose viene somministrata per mezzo di un dispositivo adatto a misurare il volume prescritto. Il dispositivo è usualmente un cucchiaino o una tazza per volumi di 5 ml o multipli.

ETICHETTE

L'etichetta indica il nome e la concentrazione del poliolo o del dolcificante.

Polveri e granulati per sciroppi

DEFINIZIONE

Le polveri e i granulati per sciroppi generalmente corrispondono alle definizioni delle monografie *Polveri per uso orale (1165)* o *Granulati (0499)*. Possono contenere eccipienti per facilitare la dissoluzione. Dopo dissoluzione, soddisfano alle specifiche per gli sciroppi.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le polveri e i granulati per sciroppi forniti in contenitori a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le polveri e i granulati in dose unica per sciroppi con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le polveri e i granulati a dose unica per sciroppi soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Si possono distinguere parecchie categorie di preparazioni liquide veterinarie per applicazione cutanea:

- bagni disinfettanti concentrati,
- bagni disinfettanti per capezzolo,
- lavaggi per mammella,
- preparazioni per applicazioni locali,
- preparazioni per tocature,
- schiume per applicazione cutanea (vedi *Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927)*),
- shampoo (vedi *Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927)*),
- spray,
- spray per capezzolo.

1808

Bagni disinfettanti concentrati

DEFINIZIONE

I bagni concentrati sono preparazioni che contengono una o più sostanze attive, usualmente sotto forma di polveri bagnabili, paste, soluzioni o sospensioni che vengono utilizzate per preparare soluzioni, sospensioni o emulsioni diluite di principi attivi. Le preparazioni diluite sono applicate per immersione completa dell'animale.

Bagni per capezzolo

DEFINIZIONE

I bagni disinfettanti per capezzolo contengono una o più sostanze attive disinfettanti, usualmente sotto forma di soluzioni in cui i capezzoli di un animale sono immersi prima e, se necessario, dopo la mungitura per ridurre sulla superficie il numero di microrganismi patogeni. I bagni per capezzolo possono essere forniti/presentati come preparazioni pronte all'uso oppure possono essere preparati per diluizione di bagni per capezzolo concentrati. Spesso bagni per capezzolo da usare prima e dopo la mungitura sono differenti nella formulazione. Di solito contengono emollienti per favorire l'idratazione della pelle, per ammorbidire e consentire il rimarginarsi di lesioni che altrimenti potrebbero accogliere batteri.

PREPARAZIONI LIQUIDE VETERINARIE PER APPLICAZIONE CUTANEA

Praeparationes liquidae veterinariae
ad usum dermicum

Se non diversamente giustificato e autorizzato, le preparazioni liquide veterinarie per applicazione cutanea soddisfano alle specifiche della monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927). Oltre a queste specifiche, alle preparazioni liquide veterinarie per applicazione cutanea si applicano le seguenti disposizioni.

DEFINIZIONE

Le preparazioni liquide veterinarie per applicazione cutanea sono preparazioni liquide destinate ad essere applicate alla pelle per ottenere un effetto locale e/o sistemico. Sono soluzioni, sospensioni o emulsioni che possono contenere una o più sostanze attive in un veicolo adatto. Possono essere presentate come concentrati nella forma di polveri bagnabili, paste, soluzioni o sospensioni che vengono utilizzate per preparare sospensioni o emulsioni diluite di principi attivi. Possono contenere conservanti antimicrobici adatti, anti-ossidanti e altri eccipienti come stabilizzanti, emulsio-nanti e addensanti.

Lavaggi per mammella

DEFINIZIONE

I lavaggi per mammelle contengono una o più sostanze attive disinfettanti, usualmente sotto forma di soluzioni che vengono spruzzate sulla mammella e sui capezzoli di un animale per rimuovere fango e contaminazione fecale prima di applicare i bagni o gli spray per capezzolo. I lavaggi per mammella sono di solito preparati per diluizione o di preparazioni concentrate o di bagni per capezzolo pronti all'uso o di spray per capezzolo.

Preparazioni per applicazioni locali

DEFINIZIONE

Le preparazioni per applicazioni locali contengono una o più sostanze attive per la prevenzione e il trattamento di infestazioni ectoparassitiche e/o endoparassitiche di animali. Sono applicate in volumi usualmente superiori a 5 ml versandole lungo la spina dorsale dell'animale.

Preparazioni per tocature

DEFINIZIONE

Le preparazioni per tocature contengono uno o più principi attivi per la prevenzione e il trattamento di infestazioni ectoparassitiche e/o endoparassitiche di animali. Sono applicate, in volumi che usualmente sono inferiori a 10 ml, a una piccola area sulla testa o sul dorso, secondo il caso, dell'animale.

Spray

DEFINIZIONE

Gli spray contengono una o più sostanze attive destinate ad essere applicate esternamente per scopi tera-

peutici o profilattici. Sono dispensati sotto forma di aerosol per attivazione di una valvola appropriata o per mezzo di un adatto sistema di atomizzazione che può essere parte integrante del contenitore oppure viene fornito separatamente.

Gli spray possono essere forniti in contenitori pressurizzati (vedi *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate (0523)*). In questo caso, usualmente gli spray consistono di una o più sostanze attive in un adatto veicolo tenuto sotto pressione con adatti propellenti o adatte miscele di propellenti. Se sono presentati in altro modo, gli spray sono forniti in contenitori ben chiusi.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo e la fabbricazione di uno spray, si prendono misure adatte ad assicurare che il prodotto finito consenta una velocità e un andamento di spruzzo definiti.

Spray per capezzolo

DEFINIZIONE

Gli spray per capezzolo contengono una o più sostanze attive disinfettanti, usualmente sotto forma di soluzioni che vengono spruzzate sopra i capezzoli di un animale prima e, se necessario, dopo la mungitura per ridurre la popolazione di microrganismi patogeni sulla superficie. Possono essere forniti/presentati come preparazioni pronte all'uso o possono essere preparati per diluizione di spray per capezzolo concentrati. Gli spray da usare prima e dopo la mungitura spesso differiscono nella formulazione. Di solito contengono emollienti per favorire l'idratazione della pelle, per ammorbidirla e consentire la guarigione di lesioni che altrimenti potrebbero accogliere batteri.

0676

PREPARAZIONI NASALI

Nasalia

DEFINIZIONE

Le preparazioni nasali sono preparazioni liquide, semi-solide o solide da somministrare nelle cavità nasali per ottenere un effetto sistemico o locale. Contengono uno o più principi attivi. Le preparazioni nasali sono, per quanto possibile, non irritanti e non esercitano alcun effetto indesiderato sulle funzioni della mucosa nasale e delle sue ciglia. Le preparazioni nasali acquose sono generalmente isotoniche e possono contenere eccipienti, per esempio per correggere la viscosità della preparazione, per correggere o stabilizzare il pH, per aumentare la solubilità del principio attivo o per stabilizzare la preparazione.

Le preparazioni nasali sono fornite in contenitori multidosi o a dose unica, muniti, se necessario, di un apposito dispositivo di somministrazione costruito in modo da evitare l'introduzione di contaminanti.

Se non diversamente giustificato ed autorizzato, le preparazioni nasali acquose confezionate in contenitori multidosi contengono un adatto antimicrobico in concentrazione appropriata, a meno che la preparazione non abbia di per sé adeguate proprietà antimicrobiche. Se del caso, i contenitori soddisfano alle specifiche di *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1. e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2. e sottosezioni)

Si possono distinguere varie categorie di preparazioni nasali:

- gocce nasali e spray nasali liquidi,
- polveri nasali,
- preparazioni semisolide nasali,
- lavaggi nasali,
- bastoncini nasali.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione nasale, la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo con i relativi criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione di preparazioni nasali, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

Le preparazioni nasali sterili si preparano usando materiali e metodi che assicurano la sterilità ed evitano la contaminazione e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Nella produzione di preparazioni nasali contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

SAGGI

Sterilità (2.6.1). Quando l'etichetta indica che la preparazione è sterile, questa soddisfa al saggio di sterilità.

CONSERVAZIONE

Se la preparazione è sterile, conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto,
- se del caso, che la preparazione è sterile.

Gocce nasali e spray nasali liquidi

DEFINIZIONE

Le gocce nasali e gli spray nasali liquidi sono soluzioni, emulsioni o sospensioni da instillare o nebulizzare nelle cavità nasali.

Le emulsioni possono presentare segni di separazione di fase, ma sono facilmente ricostituite per agitazione. Le sospensioni possono presentare un sedimento che si disperde facilmente dopo agitazione per dare una sospensione che rimane sufficientemente stabile da permettere la somministrazione di una dose corretta.

Le gocce nasali sono generalmente confezionate in recipienti multidosi muniti di un adatto applicatore.

Gli spray nasali liquidi sono confezionati in contenitori dotati di nebulizzatore o in contenitori pressurizzati forniti di un idoneo dispositivo di somministrazione,

Preparazioni nasali

con o senza valvola dosatrice, che soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate (0523)*.

Le dimensioni delle goccioline dello spray sono tali da permettere la loro deposizione nella cavità nasale.

SAGGI

Se non è diversamente prescritto o giustificato ed autorizzato, le gocce nasali confezionate in contenitori a dose unica e le singole dosi di spray nasali dispensate con valvola dosatrice destinate ad azione sistemica, soddisfano ai saggi seguenti.

Uniformità di massa. Le gocce nasali in forma di soluzione soddisfano al saggio seguente: pesare singolarmente il contenuto di dieci contenitori vuotati il più quantitativamente possibile e determinare la massa media. Non più di due delle singole masse possono presentare uno scarto superiore al 10 per cento rispetto alla massa media e nessuna uno scarto maggiore del 20 per cento.

Gli spray nasali costituiti da soluzioni erogate con valvola dosatrice soddisfano al saggio seguente: erogare una volta a perdere. Aspettare per non meno di 5 s ed erogare di nuovo a perdere. Ripetere questa procedura altre tre volte. Determinare la massa del contenitore, erogare una volta a perdere e ripesare il contenitore. Calcolare la differenza tra le due masse. Ripetere questa procedura per altri nove contenitori. Essi soddisfano al saggio se non più di due dei singoli valori presentano uno scarto superiore al 25 per cento rispetto alla massa media e nessuna uno scarto maggiore del 35 per cento.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Le gocce nasali in forma di sospensione o di emulsione soddisfano al saggio seguente: vuotare il più quantitativamente possibile ciascun contenitore ed effettuare il saggio sui singoli contenuti. Soddisfano al saggio B di uniformità di contenuto.

Uniformità di dose erogata. Gli spray nasali con valvola dosatrice costituiti da sospensioni o emulsioni soddisfano al saggio seguente: utilizzare un apparecchio in grado di raccogliere quantitativamente la dose rilasciata dall'erogatore del sistema di nebulizzazione.

Agitare un contenitore per 5 s ed erogare una volta a perdere. Aspettare per non meno di 5 s, agitare per altri 5 s ed erogare di nuovo a perdere. Ripetere questa procedura altre tre volte. Dopo 2 s scaricare una dose della preparazione nel recipiente di raccolta azionando il dispositivo di nebulizzazione. Raccogliere il liquido contenuto nel recipiente di raccolta mediante risciacqui successivi e determinare il contenuto in principio attivo nei liquidi riuniti.

Ripetere la procedura per altri nove contenitori.

Se non diversamente giustificato ed autorizzato, la preparazione soddisfa al saggio se non più di uno dei singoli contenuti è fuori dei limiti compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento e nessuno è fuori dei limiti compresi tra il 65 per cento e il 135 per cento del contenuto medio.

Se due o tre singoli contenuti sono fuori dei limiti dal 75 per cento al 125 per cento, ma sono compresi nell'intervallo dal 65 per cento al 135 per cento, ripetere il saggio su altri 20 contenitori. La preparazione soddisfa al saggio se non più di tre dei 30 singoli contenuti sono fuori dei limiti compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento e nessuno è fuori dei limiti compresi tra il 65 per cento e il 135 per cento del contenuto medio.

Polveri nasali

DEFINIZIONE

Le polveri nasali sono polveri da insufflare nelle cavità nasali per mezzo di un opportuno dispositivo.

Le polveri nasali sono conformi alle specifiche della monografia *Polveri per applicazione cutanea (1166)*.

Le dimensioni delle particelle sono tali da permettere la loro deposizione nella cavità nasale e vengono verificate con adeguati metodi di determinazione delle dimensioni particellari.

Preparazioni nasali semisolide

DEFINIZIONE

Le preparazioni nasali semisolide soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*.

I contenitori sono adattati per rilasciare il prodotto al sito di applicazione.

Lavaggi nasali

DEFINIZIONE

I lavaggi nasali sono generalmente soluzioni acquose isotoniche destinate alla pulizia delle cavità nasali.

I lavaggi nasali destinati ad essere applicati su ferite o prima di un intervento chirurgico sono sterili.

PRODUZIONE

Per lavaggi nasali presentati in contenitori a dose unica deve essere dimostrato, durante lo sviluppo, che il contenuto nominale può essere prelevato dal contenitore.

Bastoncini nasali**DEFINIZIONE**

I bastoncini nasali soddisfano alla monografia *Bastoncini* (1154).

1163

PREPARAZIONI OFTALMICHE**Ophthalmica****DEFINIZIONE**

Le preparazioni oftalmiche sono preparazioni liquide, semisolide o solide da applicare sul bulbo oculare e/o sulla congiuntiva o da introdurre nel sacco congiuntivale.

Se del caso, i contenitori soddisfano alle specifiche per i *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2 e sottosezioni).

Si possono distinguere varie categorie di preparazioni oftalmiche:

- colliri,
- bagni oculari,
- polveri per colliri e per bagni oculari,
- preparazioni oftalmiche semisolide,
- inserti oftalmici.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione oftalmica, la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata, in modo esauriente, all'autorità competente la necessità e l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Le preparazioni oftalmiche si preparano utilizzando materiali e metodi in grado di assicurare la sterilità e

di evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Nella produzione di preparazioni oftalmiche contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

Durante lo sviluppo deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dal contenitore di preparazioni oftalmiche liquide o semisolide fornite in contenitori a dose unica.

SAGGI

Sterilità (2.6.1). Le preparazioni oftalmiche soddisfano al saggio di sterilità, così come gli applicatori che vengono forniti separatamente. Si preleva l'applicatore dal suo imballaggio il più asetticamente possibile e lo si trasferisce in un tubo contenente il terreno di coltura, così che sia completamente immerso. Si pone in incubazione e si interpretano i risultati come descritto al saggio di sterilità.

CONSERVAZIONE

Se non altrimenti giustificato e autorizzato, conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

Colliri**DEFINIZIONE**

I colliri sono soluzioni acquose od oleose oppure sospensioni sterili, di uno o più principi attivi, da instillare nell'occhio.

I colliri possono contenere eccipienti, per esempio per regolare la tonicità o la viscosità della preparazione, per aggiustare o stabilizzare il pH, per aumentare la solubilità del principio attivo o per stabilizzare la preparazione.

Queste sostanze non devono influire negativamente sull'azione farmacologica desiderata o, alla concentrazione usata, dar luogo ad eccessiva irritazione locale.

Le preparazioni acquose fornite in contenitori multidose contengono, in opportuna concentrazione, un adatto antimicrobico a meno che la preparazione stessa abbia sufficienti proprietà antimicrobiche. Gli antimicrobici scelti devono essere compatibili con gli altri componenti della preparazione e devono rimanere efficaci per tutto il periodo di tempo durante il quale i colliri vengono usati.

Se i colliri non contengono conservanti antimicrobici, vengono forniti in contenitori a dose unica o in contenitori multidose tali da prevenire contaminazione microbica dei contenuti dopo l'apertura.

I colliri destinati all'uso in interventi chirurgici non contengono antimicrobici.

I colliri costituiti da una soluzione, esaminati in adatte condizioni di visibilità, sono praticamente limpidi e privi di particelle.

Le sospensioni possono mostrare un sedimento, facilmente disperso per agitazione per dare una sospensione sufficientemente stabile per consentire l'applicazione della corretta dose.

Le preparazioni multidose sono fornite in contenitori che consentono di somministrare in successione gocce della preparazione. Se non diversamente giustificato e autorizzato, i contenitori contengono al massimo 10 ml della preparazione.

SAGGI

Dimensione delle particelle. Se non altrimenti giustificato e autorizzato, i colliri costituiti da una sospensione soddisfano al saggio seguente: introdurre una quantità opportuna della sospensione in una cella di conteggio o con una micropipetta su un portaoggetti, secondo il caso, ed esaminare al microscopio un'area corrispondente a 10 μg di fase solida. Per motivi pratici, si raccomanda di osservare prima l'intero campione a basso ingrandimento (per es. 50 \times) e di identificare le particelle più grandi di 25 μm . Queste particelle più grandi possono poi essere misurate a forte ingrandimento (per es. da 200 \times a 500 \times). In 10 μg di principio attivo solido, non più di venti particelle hanno una dimensione massima maggiore di 25 μm e non più di due di queste hanno una dimensione massima maggiore di 50 μm . Nessuna delle particelle ha una dimensione massima maggiore di 90 μm .

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- per i contenitori multidose, il periodo dopo l'apertura del contenitore dopo il quale i contenuti non devono essere usati. Se non diversamente giustificato e autorizzato, questo periodo non supera le 4 settimane.

Bagni oculari

DEFINIZIONE

I bagni oculari sono soluzioni acquose sterili destinate a lavare o bagnare gli occhi, o per impacchi.

Possono contenere eccipienti, per esempio per regolare la tonicità o la viscosità della preparazione o per aggiustare o stabilizzare il pH. Queste sostanze non influenzano negativamente l'azione prevista o, alle concentrazioni usate, non causano irritazione locale.

I bagni oculari forniti in contenitori multidose contengono, in opportuna concentrazione, un adatto antimicrobico a meno che la preparazione stessa abbia sufficienti proprietà antimicrobiche. L'antimicrobico scelto è compatibile con gli altri componenti della preparazione e mantiene la sua efficacia per tutto il periodo durante il quale i bagni oculari vengono usati.

Se i bagni oculari non contengono conservanti antimicrobici, vengono forniti in contenitori a dose unica. I bagni oculari destinati all'uso in interventi chirurgici o in trattamenti di pronto soccorso non contengono antimicrobici e vengono forniti in contenitori a dose unica.

I bagni oculari, esaminati in adatte condizioni di visibilità, sono praticamente limpidi e privi di particelle.

Se non diversamente giustificato ed autorizzato, i contenitori per preparazioni multidose non contengono più di 200 ml di soluzione oftalmica.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- se del caso, che i contenuti si devono utilizzare una sola volta,
- per preparazioni multidose, il periodo dopo l'apertura del contenitore dopo il quale i contenuti non devono essere usati. Se non diversamente giustificato ed autorizzato, questo periodo non supera le 4 settimane.

Polveri per colliri e per bagni oculari

DEFINIZIONE

Le polveri per la preparazione di colliri e di bagni oculari sono fornite in forma sterile, secca, per essere disciolte o sospese in un adatto veicolo liquido al momento della somministrazione. Possono contenere eccipienti per facilitare la dissoluzione o la dispersione, per evitare la sedimentazione, per correggere la tonicità, per correggere o stabilizzare il pH o per stabilizzare la preparazione.

Dopo dissoluzione o sospensione nel liquido prescritto, soddisfano alle specifiche per colliri o per bagni oculari, secondo il caso.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le polveri a dose unica per colliri e per bagni oculari soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le polveri a dose unica per colliri e per bagni oculari con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto di preparazioni a dose unica. Se la preparazione contiene più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi che corrispondono alle condizioni sopracitate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le polveri per colliri e per bagni oculari a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Preparazioni oftalmiche semisolide

DEFINIZIONE

Le preparazioni oftalmiche semisolide sono unguenti, creme o gel sterili destinati all'applicazione sulla con-

giuntiva o sulle palpebre. Contengono uno o più principi attivi disciolti o dispersi in una base adatta; hanno un aspetto omogeneo.

Le preparazioni oftalmiche semisolide soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*. La base non deve essere irritante per la congiuntiva.

Le preparazioni oftalmiche semisolide sono confezionate in piccoli tubi flessibili, sterili, dotati di una cannula e con un contenuto della preparazione non superiore a 10 g se non altrimenti giustificato ed autorizzato. I tubi devono essere ben chiusi per evitare la contaminazione microbica. Le preparazioni oftalmiche semisolide possono essere confezionate anche in adatti contenitori a dose unica. I contenitori o i beccucci dei tubi sono di forma tale da facilitare la somministrazione senza contaminazione. I tubi sono a chiusura inviolabile.

SAGGI

Dimensione delle particelle. Le preparazioni oftalmiche semisolide che contengono particelle solide disperse soddisfano al saggio seguente: stendere delicatamente in strato sottile una quantità della preparazione corrispondente ad almeno 10 µg di principio attivo solido. Osservare al microscopio l'intera area del campione. Per motivi pratici, si raccomanda di osservare prima l'intero campione ad un basso ingrandimento (per es. 50 ×) e di identificare le particelle più grandi di 25 µm. Queste particelle più grandi possono poi essere misurate ad ingrandimento maggiore (per es. da 200 × a 500 ×). Per ogni campione di 10 µg di principio attivo solido, non più di venti particelle hanno una dimensione massima maggiore di 25 µm e non più di due di queste hanno una dimensione massima maggiore di 50 µm. Nessuna delle particelle ha una dimensione massima maggiore di 90 µm.

Inseri oftalmici

DEFINIZIONE

Gli inseri oftalmici sono preparazioni sterili, solide o semisolide, di forma e dimensione adatte, destinate ad essere inserite nel sacco congiuntivale per ottenere un effetto sull'occhio. Generalmente sono costituiti da un serbatoio di principio attivo inserito in una matrice o circondato da una membrana che controlla la velocità

di cessione. Il principio attivo, che è più o meno solubile nel liquido lacrimale, viene rilasciato in un determinato periodo di tempo.

Gli inserti oftalmici sono confezionati singolarmente in contenitori sterili.

PRODUZIONE

Nella produzione di inserti oftalmici si devono adottare opportune misure atte ad assicurare un appropriato processo di dissoluzione.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Gli inserti oftalmici soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto descritto qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Gli inserti oftalmici soddisfano, se del caso, al saggio A per l'uniformità di contenuto.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- se del caso, la quantità totale di principio attivo per inserto,
- se del caso, la dose rilasciata per unità di tempo.

1807

PREPARAZIONI OROMUCOSALI

Praeparationes buccales

Le specifiche di questa monografia non si applicano a preparazioni dentali e neppure a preparazioni come Compresse masticabili (0478), Gomme da masticare medicate (1239), liofilizzati per uso orale o altre preparazioni solide o semi-solide destinate ad essere masticate o disperse nella saliva prima di essere inghiottite. Se giustificato e autorizzato, le specifiche di questa monografia non si applicano a preparazioni per uso veterinario.

DEFINIZIONE

Le preparazioni oromucosali sono preparazioni solide, semi-solide o liquide, contenenti una o più sostanze attive, destinate alla somministrazione alla cavità orale e/o alla gola per ottenere un effetto locale o sistemico. Le preparazioni destinate ad un effetto locale possono essere progettate per essere applicate in una specifica parte entro la cavità orale come le gomme (preparazioni gengivali) oppure nella gola (preparazioni orofaringee). Le preparazioni destinate ad un effetto sistemico sono progettate per essere assorbite soprattutto a uno o più siti della mucosa buccale (per es. preparazioni sublinguali). Le preparazioni mucoadesive sono destinate ad essere trattenute nella cavità buccale per adesione all'epitelio mucosale e possono modificare l'assorbimento sistemico del farmaco al sito di applicazione. Per molte preparazioni oromucosali è verosimile che una parte delle sostanze attive sarà deglutita e potrà essere assorbita nel tratto gastrointestinale.

Le preparazioni oromucosali possono contenere opportuni conservanti antimicrobici e altri eccipienti come sostanze disperdenti, sospendenti, addensanti, emulsionanti, tamponanti, bagnanti, solubilizzanti, stabilizzanti, aromatizzanti e dolcificanti. Le preparazioni solide possono inoltre contenere agenti che favoriscono lo scorrimento, lubrificanti ed eccipienti in grado di modificare il rilascio del/dei principi attivi.

Se del caso, i contenitori per le preparazioni oromucosali soddisfano alle specifiche per *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2 e sottosezioni).

Si possono distinguere parecchie categorie di preparazioni per uso oromucosale:

- gargarismi,
- collutori,
- gengivari,
- soluzioni e sospensioni oromucosali,
- preparazioni oromucosali semi-solide (compresi per esempio gel gengivale, pasta gengivale, gel oromucosale, pasta oromucosale),
- gocce oromucosali, spray oromucosali e sublinguali (inclusi gli spray orofaringei),
- pastiglie e paste,
- tavolette,
- compresse sublinguali e buccali,
- capsule oromucosali,
- preparazioni mucoadesive.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione oromucosale che contenga un antimicrobico, l'efficacia del conservante scelto deve essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente. Un idoneo metodo con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Nella fabbricazione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle preparazioni oromucosali, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

Nella fabbricazione di preparazioni oromucosali liquide e semi-solidi contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le preparazioni oromucosali a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le preparazioni a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio A (forme farmaceutiche ottenute per compressione o con stampi) o al saggio B (capsule) per l'uniformità di contenuto per le forme farmaceutiche a dose unica. Se la preparazione contiene più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi attivi che corrispondono alle condizioni sopra citate.

Uniformità di massa (2.9.5). Le preparazioni solide a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa. Se per tutti i principi attivi è prescritto o giustificato e autorizzato il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

ETICHETTE

L'etichetta indica il nome di ogni conservante antimicrobico aggiunto.

Gargarismi

DEFINIZIONE

I gargarismi sono soluzioni acquose destinate ad essere gargarizzate per ottenere un effetto locale. Non devono essere inghiottiti. Vengono dispensati come soluzioni pronte all'uso o soluzioni concentrate da diluire. Possono essere preparati anche da polveri o compresse da disciogliere in acqua prima dell'uso.

Possono contenere eccipienti per aggiustare il pH che, per quanto possibile, è neutro.

Collutori

DEFINIZIONE

I collutori sono soluzioni acquose destinate a venire a contatto con la membrana mucosa della cavità orale, usualmente dopo diluizione con acqua. Non devono essere inghiottiti. Sono dispensati come soluzioni pronte all'uso o soluzioni concentrate da diluire. Possono essere preparati anche da polveri o compresse da disciogliere in acqua prima dell'uso.

I collutori possono contenere eccipienti per aggiustare il pH che, per quanto possibile, è neutro.

Gengivari

DEFINIZIONE

Le soluzioni gengivali sono destinate ad essere somministrate alle gengive per mezzo di un opportuno applicatore.

Soluzioni e sospensioni oromucosali

DEFINIZIONE

Le soluzioni e sospensioni oromucosali sono preparazioni liquide destinate ad essere somministrate alla cavità buccale per mezzo di un adatto applicatore.

Le sospensioni oromucosali possono mostrare un sedimento facilmente ridispersibile per agitazione a ridare una sospensione che rimane sufficientemente stabile da permettere la somministrazione di una corretta dose.

Preparazioni oromucosali semi-solide

DEFINIZIONE

Le preparazioni oromucosali semi-solide sono gel idrofilo o paste destinate all'applicazione alla cavità orale o ad una parte specifica della cavità orale come le gengive (gel gengivale, pasta gengivale). Possono essere dispensate come preparazioni a dose unica.

Soddisfano alle specifiche della monografia su *Preparazioni semi-solide per applicazione cutanea (0132)*.

Gocce oromucosali, spray oromucosali e sublinguali

DEFINIZIONE

Le gocce oromucosali, gli spray oromucosali e sublinguali sono soluzioni, emulsioni o sospensioni destinate ad avere effetto locale o sistemico. Sono applicate per instillazione o nebulizzazione nella cavità orale o su una parte specifica della cavità orale come nebulizzazione sotto la lingua (spray sublinguale) o nella gola (spray orofaringeo).

Le emulsioni possono mostrare segno di separazione di fase, ma sono facilmente ridisperse per agitazione. Le sospensioni possono mostrare un sedimento che viene facilmente ridisperso per agitazione a dare una sospensione che rimane sufficientemente stabile da permettere la somministrazione di una corretta dose.

Gli spray oromucosali liquidi sono dispensati in contenitori con sistemi nebulizzatori oppure in contenitori pressurizzati muniti di opportuno adattatore, con o senza una valvola dosatrice, che soddisfano alle specifiche della monografia su *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate (0523)*.

La dimensione delle goccioline dello spruzzo è tale da localizzare il loro depositarsi nella cavità orale o nella gola, come previsto.

SAGGI

Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le gocce oromucosali fornite in contenitori a dose unica, gli spray oromucosali e sublinguali con valvola dosatrice, tutti destinati ad una azione sistemica, soddisfano ai seguenti saggi.

GOCCE OROMUCOSALI IN CONTENITORI A DOSE UNICA

Uniformità delle unità di dosaggio. Le gocce oromucosali in contenitori a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di massa. *Le gocce oromucosali che sono costituite da una soluzione soddisfano al seguente saggio:* determinare le masse singole dei contenuti di 10 contenitori vuotati il più completamente possibile e calcolare la massa media. Non più di due delle masse singole deviano di più del 10 per cento dalla massa media e nessuna devia più del 20 per cento.

Uniformità di contenuto (2.9.6). *Le gocce oromucosali costituite da sospensioni o da emulsioni soddisfano al seguente saggio:* vuotare ciascun contenitore il più completamente possibile ed effettuare il saggio sui contenuti singoli. Soddisfano al saggio B per l'uniformità di contenuto.

SPRAY OROMUCOSALI E SPRAY SUBLINGUALI CON VALVOLA DOSATRICE.

Uniformità delle unità di dosaggio. Gli spray oromucosali e gli spray sublinguali con valvola dosatrice soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Nel caso di spray oromucosali e di spray sublinguali con valvola dosatrice costituiti da soluzioni, procedere nel modo seguente. Scaricare una volta a perdere. Aspettare non meno di 5 s, agitare per 5 s e scaricare di nuovo a perdere. Ripetere questo procedimento per altre 5 volte. Determinare la massa del contenitore, scaricare una volta a perdere e determinare ancora la massa del contenitore. Calcolare la differenza fra le due masse. Ripetere la procedura per altri 9 contenitori. Determinare la variazione di massa (2.9.40).

Nel caso di spray oromucosali e di spray sublinguali con valvola dosatrice costituiti da sospensioni o emulsioni procedere nel modo seguente. Usare un apparato che possa raccogliere quantitativamente la dose rilasciata dall'erogatore del sistema di nebulizzazione.

Agitare il contenitore per 5 s e scaricare una volta a perdere. Aspettare per non meno di 5 s, agitare per 5 s e scaricare di nuovo a perdere. Ripetere questo procedimento per altre tre volte. Dopo 2 s convogliare una dose erogata dallo spray nel recipiente di raccolta attivando il dispositivo di nebulizzazione. Raccogliere i contenuti del recipiente di raccolta con successivi lavaggi.

Determinare il contenuto di sostanza attiva nei lavaggi riuniti. Ripetere la procedura per altri 9 contenitori. Determinare l'uniformità di contenuto (2.9.40).

Uniformità di massa. *Gli spray oromucosali e gli spray sublinguali con valvola dosatrice costituiti da soluzioni soddisfano al seguente saggio.* Scaricare una volta a perdere. Aspettare non meno di 5 s, agitare per 5 s e scaricare di nuovo a perdere. Ripetere questo procedimento per altre 3 volte. Determinare la massa del contenitore, scaricare una volta a perdere e determinare ancora la massa del contenitore. Calcolare la differenza tra le due masse. Ripetere la procedura per altri 9 contenitori.

La preparazione soddisfa al saggio se non più di 2 delle masse singole deviano di più del 25 per cento dal valore medio e nessuna si scosta di più del 35 per cento.

Uniformità della dose erogata. *Gli spray oromucosali e gli spray sublinguali con valvole dosatrici costituiti da sospensioni o emulsioni soddisfano al seguente saggio.* Usare un apparato che possa raccogliere quantitativamente la dose rilasciata dall'erogatore del sistema di nebulizzazione.

Agitare il contenitore per 5 s e scaricare una volta a perdere. Aspettare per non meno di 5 s, agitare per 5 s e scaricare di nuovo a perdere. Ripetere questo procedimento per altre tre volte. Dopo 2 s convogliare una dose erogata dallo spray nel recipiente di raccolta attivando il dispositivo di nebulizzazione. Raccogliere i contenuti del recipiente di raccolta con successivi lavaggi.

Determinare il contenuto di sostanza attiva nei lavaggi riuniti. Ripetere la procedura per altri 9 contenitori.

Se non diversamente giustificato e autorizzato, la preparazione soddisfa al saggio se non più di uno dei singoli contenuti è fuori dai limiti dal 75 al 125 per cento e nessuno è fuori dai limiti dal 65 al 135 per cento del contenuto medio.

Se 2 o al massimo 3 contenuti singoli sono fuori dai limiti del 75-125 per cento ma entro i limiti del 65-135 per cento, ripetere il saggio con altri 20 contenitori. La preparazione soddisfa al saggio se non più di 3 contenuti singoli, dei 30 contenitori, sono fuori dai limiti del 75-125 per cento e nessuno fuori dai limiti del 65-135 per cento del contenuto medio.

Pastiglie e paste

DEFINIZIONE

Le pastiglie e le paste sono preparazioni solide, a dose unica, destinate ad essere succhiate per ottenere, di solito, un effetto locale nella cavità buccale e nella gola. Contengono una o più sostanze attive, usualmente in una base aromatizzata e dolcificata, e sono destinate a disciogliersi o disaggregarsi lentamente nella bocca quando vengono succhiate.

Le pastiglie sono saccaroliti solidi preparati con stampi. Le paste sono gomme morbide, elastiche preparate con stampi da miscele contenenti polimeri naturali o sintetici e dolcificanti.

Tavolette

DEFINIZIONE

Le tavolette sono preparazioni solide a dose unica, destinate ad essere succhiate per ottenere un effetto locale o sistemico. Sono preparate per compressione e sono spesso di forma romboidale.

Le tavolette corrispondono alla definizione generale di compresse.

PRODUZIONE

Nella fabbricazione di tavolette sono prese misure atte ad assicurare che abbiano una resistenza meccanica adatta a resistere alle manipolazioni senza sgretolarsi o rompersi. Questo si può dimostrare esaminando la *Friabilità delle compresse non rivestite* (2.9.7) e la *Resistenza alla rottura* (2.9.8).

SAGGI

Dissoluzione. Per tavolette destinate a produrre un effetto sistemico, si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del/dei farmaci.

Compresse sublinguali e buccali

DEFINIZIONE

Le compresse sublinguali e buccali sono preparazioni solide, a dose unica, da applicare sotto la lingua o alla cavità buccale, rispettivamente, per ottenere un effetto sistemico. Sono preparate per compressione di miscele di polveri o granulati in compresse di forma adatta per l'uso previsto.

Le compresse sublinguali e buccali corrispondono alla definizione generale di compresse.

PRODUZIONE

Nella fabbricazione di compresse sublinguali e buccali sono prese misure atte ad assicurare che abbiano una forza meccanica adatta a resistere alle manipolazioni senza sgretolarsi e rompersi. Questo si può dimostrare esaminando la *Friabilità delle compresse non rivestite* (2.9.7) e la *Resistenza alla rottura delle compresse* (2.9.8).

SAGGI

Dissoluzione. Se non diversamente giustificato e autorizzato, si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del/dei farmaci.

Capsule oromucosali

DEFINIZIONE

Le capsule oromucosali sono capsule molli da masticare o succhiare.

Preparazioni mucoadesive

DEFINIZIONE

Le preparazioni mucoadesive contengono una o più sostanze attive destinate all'assorbimento sistemico attraverso la mucosa buccale in un periodo di tempo prolungato. Possono essere fornite come compresse buccali mucoadesive o come cerotti buccali o altre preparazioni mucoadesive solide o semi-solide.

Le compresse buccali mucoadesive si preparano per compressione a compresse mono- o multi-strato. Usualmente contengono polimeri idrofili che a contatto con la saliva danno un idrogel flessibile che aderisce alla mucosa buccale.

PRODUZIONE

Nella fabbricazione di compresse buccali mucoadesive sono prese misure atte ad assicurare che abbiano una forza meccanica adatta a resistere alla manipolazione senza sgretolarsi e rompersi. Questo si può dimostrare esaminando la *Friabilità delle compresse non rivestite* (2.9.7) e la *Resistenza alla rottura delle compresse* (2.9.8).

SAGGI

Dissoluzione. Se non diversamente giustificato e autorizzato, si effettua un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del/dei farmaci.

0520

PREPARAZIONI PARENTERALI

Parenteralia

Le specifiche di questa monografia non si applicano necessariamente a prodotti derivati da sangue umano, a preparazioni immunologiche o a preparazioni radiofarmaceutiche. Particolari specifiche possono riguardare preparazioni per uso veterinario, secondo la specie animale cui è destinata la preparazione.

DEFINIZIONE

Le preparazioni parenterali sono preparazioni sterili destinate alla somministrazione per iniezione, infusione o impianto nel corpo umano o animale.

Le preparazioni parenterali possono richiedere l'uso di eccipienti, per esempio per renderle isotoniche con il sangue, per regolarne il pH, per aumentare la solubilità, per prevenire l'alterazione dei principi attivi o per dotarle di adeguate proprietà antimicrobiche ma gli eccipienti non devono influenzare negativamente l'azione medicamentosa della preparazione o, alle concentrazioni usate, causare effetti tossici o irritazione locale indesiderata.

I contenitori per preparazioni parenterali sono fatti, per quanto è possibile, con materiali sufficientemente trasparenti per permettere l'ispezione visiva dei contenuti, eccetto per gli impianti e in altri casi giustificati e autorizzati.

Se del caso, i contenitori per preparazioni parenterali soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2 e sottosezioni).

Le preparazioni parenterali sono fornite in contenitori di vetro (3.2.1) o in altri contenitori come contenitori in plastica (3.2.2, 3.2.2.1 e 3.2.9) e siringhe pre-riempite. La tenuta del contenitore è assicurata con opportuni accorgimenti. Le chiusure garantiscono l'ermeticità, impediscono l'accesso di microrganismi e altri contaminanti e di norma consentono il prelievo di una parte o di tutto il contenuto senza rimuoverle. I materiali plastici o elastomeri (3.2.9) di cui è fatta la chiusura, sono sufficientemente compatti ed elastici da permettere il passaggio di un ago con il minor distacco possibile di particelle. Le chiusure per contenitori multidose sono sufficientemente elastiche da garantire che il foro si richiuda quando si toglie l'ago.

Si possono distinguere varie categorie di preparazioni parenterali:

- preparazioni iniettabili,
- infusioni,
- concentrati per preparazioni iniettabili o infusioni,
- polveri per preparazioni iniettabili o infusioni,
- gel per preparazioni iniettabili,
- impianti.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione parenterale, la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo di saggio con criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3).

Le preparazioni parenterali si preparano utilizzando materiali e metodi in grado di assicurare la sterilità e di evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

L'acqua usata nella produzione di preparazioni parenterali soddisfa alle specifiche dell'acqua per iniezioni, stabilite nella monografia *Acqua per preparazioni iniettabili* (0169).

SAGGI

Contaminazione particellare: particelle non visibili (2.9.19). Per preparazioni per uso umano, le soluzioni per infusione o i preparati iniettabili soddisfano al saggio.

Nel caso di preparazioni per iniezione sottocutanea o intramuscolare, possono essere appropriati limiti più alti. Le preparazioni radiofarmaceutiche sono esenti da queste specifiche. Preparazioni per le quali l'etichetta indica che il prodotto deve essere usato con un filtro finale sono esenti da queste specifiche, purché sia stato dimostrato che il filtro rilascia una soluzione che soddisfa al saggio.

Per preparazioni per uso veterinario, quando fornite in contenitori con un contenuto nominale di più di 100 ml e quando il contenuto sia equivalente ad una dose di più di 1,4 ml per chilogrammo di massa corporea, le soluzioni per infusione o per preparati iniettabili soddisfano al saggio per contaminazione particellare: particelle non visibili.

Preparazioni parenterali

Sterilità (2.6.1). Le preparazioni parenterali soddisfano al saggio di sterilità.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome e la concentrazione di ogni antimicrobico aggiunto,
- se del caso, che la soluzione è da usarsi in unione con un filtro finale,
- se del caso, che la preparazione è priva di endotossine batteriche o che è apirogena.

Preparazioni iniettabili

DEFINIZIONE

Le preparazioni iniettabili sono soluzioni, emulsioni o sospensioni sterili. Sono preparate disciogliendo, emulsionando o sospendendo il o i principi attivi e qualunque altro eccipiente aggiunto in acqua, in un adatto liquido non acquoso che può essere non sterile se giustificato o in una miscela di questi veicoli.

Le soluzioni per preparazioni iniettabili, esaminate in condizioni di luce adatta, sono limpide e praticamente prive di particelle.

Le emulsioni per preparazioni iniettabili non mostrano segni di separazione di fase. Le sospensioni per preparazioni iniettabili possono presentare un sedimento che è facilmente disperso all'agitazione per dare una sospensione che rimane sufficientemente stabile per permettere di prelevare la corretta dose.

Preparazioni multidose. Le iniezioni acquose multidose contengono un adatto antimicrobico ad una concentrazione appropriata eccetto quando la preparazione ha di per sé adeguate proprietà antimicrobiche. Quando una preparazione per uso parenterale è fornita in un contenitore multidose, sono indicate le precauzioni da prendere per la sua somministrazione ed in particolare per la sua conservazione tra prelievi successivi.

Antimicrobici. Le preparazioni acquose che vengono preparate usando condizioni asettiche e che non pos-

sono essere sterilizzate al termine del procedimento possono contenere un adatto antimicrobico in concentrazione appropriata.

Non viene aggiunto alcun antimicrobico quando:

- il volume da iniettare in una dose unica supera i 15 ml, se non diversamente giustificato,
- la preparazione è destinata alla somministrazione per vie dove, per ragioni mediche, non è accettabile un antimicrobico, quali quella intracisternale, epidurale, intratecale o per qualsiasi altra via che dia accesso al liquido cerebrospinale, o intra- o retro-oculare.

Tali preparazioni vengono presentate in contenitori a dose unica.

PRODUZIONE

Nella produzione di preparazioni iniettabili contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare controllate ed idonee dimensioni delle particelle in relazione all'uso previsto.

Preparazioni a dose unica. Il volume della preparazione iniettabile in un contenitore a dose unica è sufficiente a permettere il prelievo e la somministrazione della dose nominale con una tecnica usuale (2.9.17).

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le sospensioni per iniezione a dose unica soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato ed autorizzato, le sospensioni per iniezioni a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o al 2 per cento della massa totale, soddisfano al saggio A per l'uniformità di contenuto per le preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi attivi che rispondono alle condizioni di cui sopra.

Endotossine batteriche-pirogeni. Viene effettuato un saggio per le endotossine (2.6.14) o, dove giustificato e autorizzato, il saggio per i pirogeni (2.6.8). Raccomandazioni sui limiti per le endotossine batteriche sono date nel capitolo 2.6.14.

Preparazioni per uso umano. La preparazione soddisfa al saggio per le endotossine batteriche (2.6.14) o al saggio per i pirogeni (2.6.8).

Preparazioni per uso veterinario. Quando il volume da iniettare in una dose unica è di 15 ml o più ed è equivalente ad una dose di 0,2 ml o più per chilogrammo di massa corporea, la preparazione soddisfa al saggio per le endotossine batteriche (2.6.14) o al saggio per i pirogeni (2.6.8).

Qualsiasi preparazione. Dove l'etichetta indica che la preparazione è priva di endotossine batteriche o apirogena, rispettivamente, la preparazione soddisfa al saggio per le endotossine batteriche (2.6.14) o al saggio per i pirogeni (2.6.8).

Infusioni

DEFINIZIONE

Le infusioni sono soluzioni acquose o emulsioni, con acqua come fase continua, sterili; esse vengono generalmente rese isotoniche con il sangue. Sono principalmente destinate alla somministrazione in grande volume. Le infusioni non contengono alcun antimicrobico aggiunto.

Le soluzioni per infusione, esaminate in condizioni adatte di visibilità, sono limpide e praticamente esenti da particelle.

Le emulsioni per infusione non mostrano alcuna evidenza di separazione di fase.

PRODUZIONE

Nella produzione di infusioni contenenti particelle disperse sono prese misure atte ad assicurare idonee e controllate dimensioni delle particelle in relazione all'uso previsto.

Il volume dell'infusione nel contenitore è sufficiente a permettere il prelievo e la somministrazione della dose nominale operando normalmente (2.9.17).

SAGGI

Endotossine batteriche-pirogeni. Soddiscano al saggio per le endotossine batteriche (2.6.14) o, se giustificato e autorizzato, al saggio per i pirogeni (2.6.8). Per quest'ultimo saggio, iniettare 10 ml per chilogrammo di massa corporea in ciascun coniglio, se non diversamente giustificato e autorizzato.

Concentrati per preparazioni iniettabili o infusioni

DEFINIZIONE

I concentrati per preparazioni iniettabili o infusioni sono soluzioni sterili destinate a preparazioni iniettabili o infusione dopo diluizione. Vengono diluiti a un volume prescritto con un dato liquido prima della somministrazione. Dopo diluizione, soddisfano alle specifiche per preparazioni iniettabili o infusioni.

SAGGI

Endotossine batteriche-pirogeni. Soddiscano alle specifiche stabilite per le preparazioni iniettabili o per le infusioni, dopo diluizione ad un appropriato volume.

Polveri per preparazioni iniettabili o infusioni

DEFINIZIONE

Le polveri per preparazioni iniettabili o infusioni sono sostanze solide, sterili, ripartite nei loro contenitori finali e che, quando vengono agitate con il volume prescritto di un dato liquido sterile, danno luogo rapidamente o a soluzioni limpide e praticamente prive di particelle o a sospensioni uniformi. Dopo dissoluzione o sospensione, esse soddisfano alle specifiche per le iniezioni o per le infusioni.

I prodotti liofilizzati per uso parenterale sono considerati come polveri per preparazioni iniettabili o infusioni.

PRODUZIONE

L'uniformità di contenuto e l'uniformità di massa di prodotti liofilizzati per uso parenterale sono assicurate dal controllo in produzione della quantità di soluzione prima della liofilizzazione.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio. Le polveri per preparazione iniettabili o infusioni soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40) o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di con-

tenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le polveri per preparazioni iniettabili o infusioni con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o al 2 per cento della massa totale o con una massa unitaria uguale o inferiore a 40 mg soddisfano al saggio A per l'uniformità di contenuto di preparazioni a dose unica. Se la preparazione contiene più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quelli che corrispondono alle condizioni di cui sopra.

Uniformità di massa (2.9.5). Polveri per preparazioni iniettabili o infusioni, soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Endotossine batteriche-pirogeni. Soddisfano alle specifiche fissate per preparazioni iniettabili o per infusioni, dopo dissoluzione o sospensione in un adatto volume di liquido.

ETICHETTE

L'etichetta indica le istruzioni per l'allestimento di preparazioni iniettabili e di infusioni.

Gel per preparazioni iniettabili

DEFINIZIONE

I gel per preparazioni iniettabili sono gel con una viscosità adatta a garantire un rilascio modificato della/delle sostanze attive al sito di iniezione.

Impianti

DEFINIZIONE

Gli impianti sono preparazioni solide, sterili, di dimensione e forma adatte per l'impianto e il rilascio del/dei principi attivi per un periodo di tempo prolungato. Ciascuna dose viene fornita in un contenitore sterile.

PREPARAZIONI PER INALAZIONE

Inhalanda

DEFINIZIONE

Le preparazioni per inalazione sono preparazioni liquide o solide da somministrare come vapore o aerosol al polmone per ottenere un effetto locale o sistemico. Contengono uno o più principi attivi che possono essere disciolti o dispersi in un adatto veicolo.

Le preparazioni per inalazione possono, secondo il tipo di preparazione, contenere propellenti, co-solventi, diluenti, antimicrobici, solubilizzanti, stabilizzanti, ecc. Questi eccipienti non influiscono negativamente sulle funzioni della mucosa dell'apparato respiratorio o delle sue ciglia.

Le preparazioni per inalazione sono fornite in contenitori multidose o a dose unica. Quando sono forniti in contenitori pressurizzati, soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate (0523)*.

Le preparazioni da somministrare come aerosol (dispersioni di particelle solide o liquide in un gas) vengono somministrate con uno dei dispositivi seguenti:

- nebulizzatore,
- inalatore dosatore pressurizzato,
- inalatore di polvere.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione per inalazione la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo con criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica (5.1.3)*.

Le dimensioni delle particelle di aerosol da inalare sono controllate in modo che una frazione significativa si depositi nel polmone. Le caratteristiche di granulometria di preparazioni per inalazione si determinano con il metodo per la *Valutazione aerodinamica delle particelle fini (2.9.18)*.

Nello stabilire l'uniformità della dose erogata da un inalatore multidose non è sufficiente effettuare il saggio su un solo inalatore. I produttori devono utilizzare procedure che prendano in considerazione l'uniformità di dose sia per inalatori diversi che per lo stesso inalatore. Un metodo appropriato basato sul saggio sullo stesso inalatore potrebbe consistere nel raccogliere ciascuna delle dosi specificate all'inizio, nel mezzo e alla fine del numero di dosi indicato sull'etichetta da inalatori diversi.

Gli inalatori dosatori pressurizzati vengono controllati per le perdite. Tutti gli inalatori sono controllati per la contaminazione particellare estranea.

ETICHETTE

Per preparazioni con dosatore, l'etichetta indica:

- la dose erogata, ad eccezione delle preparazioni per le quali la dose è stata fissata come dose misurata o come dose predispensata,
- se del caso, il numero di attivazioni del dispositivo necessarie per fornire la dose minima raccomandata,
- il numero di attivazioni per inalatore.

L'etichetta indica, se del caso, il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

Preparazioni liquide per inalazione

Si possono distinguere tre categorie di preparazioni liquide per inalazione:

- A. preparazioni destinate ad essere vaporizzate,
- B. preparazioni liquide per nebulizzazione,
- C. preparazioni pressurizzate con dosatore per inalazione.

Le preparazioni liquide per inalazione sono soluzioni o dispersioni.

Le dispersioni sono facilmente dispersibili per agitazione e rimangono sufficientemente stabili da permettere il rilascio della dose corretta. Possono essere usati adatti eccipienti.

A. Preparazioni destinate ad essere vaporizzate

DEFINIZIONE

Le preparazioni destinate ad essere vaporizzate sono soluzioni, dispersioni o preparazioni solide. Usualmente si aggiungono ad acqua calda e si inala il vapore che si forma.

B. Preparazioni liquide per nebulizzazione

DEFINIZIONE

Le preparazioni liquide per inalazione destinate ad essere trasformate in aerosol per mezzo di nebulizzatori operanti in continuo o di nebulizzatori dosatori sono soluzioni, sospensioni o emulsioni. Si possono usare adatti co-solventi o solubilizzanti per aumentare la solubilità dei principi attivi.

Le preparazioni liquide per nebulizzazione in forma concentrata, da usare in nebulizzatori operanti in continuo, prima dell'uso vengono diluite al volume fissato con il liquido prescritto. I liquidi per nebulizzazione si possono preparare anche da polveri.

Il pH delle preparazioni liquide da usare con nebulizzatori operanti in continuo non è inferiore a 3 e non superiore a 8,5.

Le sospensioni e le emulsioni sono facilmente dispersibili per agitazione e rimangono sufficientemente stabili da consentire il rilascio della dose corretta.

Le preparazioni acquose per nebulizzazione fornite in contenitori multidose possono contenere un adatto antimicrobico in concentrazioni opportune, eccetto il caso in cui la preparazione stessa abbia adeguate proprietà antimicrobiche.

I nebulizzatori che operano in continuo sono dispositivi che trasformano i liquidi in aerosol per mezzo di gas compressi, di ultrasuoni o altri metodi. Essi consentono di inalare la dose ad una opportuna velocità e forniscono particelle di dimensioni che assicurano il depositarsi della preparazione nei polmoni.

I nebulizzatori dosatori sono dispositivi che trasformano i liquidi in aerosol per mezzo di gas compressi, ultrasuoni o altri metodi. Il volume di liquido da nebulizzare viene dosato così che la dose di aerosol può essere inalata con un respiro.

C. Preparazioni pressurizzate con dosatore per inalazione

DEFINIZIONE

Le preparazioni pressurizzate con dosatore per inalazione sono soluzioni, sospensioni o emulsioni fornite in contenitori dotati di una valvola dosatrice e che sono tenute sotto pressione con adatti propellenti o adatte miscele di propellenti liquefatti che possono assolvere anche il compito di solventi. Possono essere aggiunti opportuni co-solventi, solubilizzanti e stabilizzanti.

La dose erogata è quella rilasciata dall'inalatore al paziente. Per alcune preparazioni la dose è stata stabilita come una dose misurata, che si determina aggiungendo la quantità depositata entro il dispositivo alla dose erogata. Può essere determinata anche direttamente.

SAGGI

Per inalatori dosatori pressurizzati che operano col respiro, le condizioni del saggio descritto sotto possono richiedere modifiche per assicurare che, per l'inalatore in esame, il suo azionamento avvenga con il respiro.

Uniformità di dose rilasciata. I contenitori di norma si usano capovolti. Per i contenitori che si usano in posizione diritta si applica un saggio equivalente, usando metodi che assicurino la raccolta dell'intera dose erogata. In tutti i casi, preparare l'inalatore secondo le istruzioni per il paziente.

L'apparecchio per la raccolta della dose deve essere in grado di raccogliere quantitativamente la dose erogata. Si possono usare il seguente apparecchio (Figura 0671.-1) e procedimento.

L'apparecchio è costituito da una base porta-filtro con un porta-filtro a rete, come una rete di acciaio inossidabile, un tubo di raccolta che è graffiato o avvitato alla base porta-filtro e un adattatore per il boccaglio per assicurare una chiusura ermetica fra il tubo di raccolta e il boccaglio.

Usare un adattatore per il boccaglio che assicuri che la parte anteriore del boccaglio inalatore sia a livello con la faccia anteriore o con il bordo rientrante di 2,5 mm del tubo di raccolta del campione, come appropriato. Il raccordo col vuoto è collegato ad un sistema che comprende una pompa da vuoto e un regolatore di flusso. La pompa è regolata in modo da aspirare aria attraverso tutto il sistema, compreso il filtro e l'inalatore in esame, a 28,3 litri al minuto (± 5 per cento). L'aria deve essere continuamente aspirata attraverso l'apparecchio, per evitare perdita di principio attivo nell'atmosfera. La base porta-filtro è predisposta per dischi filtranti del diametro di 25 mm. Il disco filtrante e altri materiali usati nella costruzione dell'apparecchio devono essere compatibili con il principio attivo e con i solventi che sono usati per estrarre il principio attivo dal filtro. Una estremità del tubo di raccolta è predisposta per tenere strettamente il disco filtrante contro la base porta-filtro. Quando l'apparecchio è montato, i giunti fra le varie parti sono a tenuta ermetica, così che quando si fa il vuoto alla base del filtro, tutta l'aria aspirata attraverso il tubo di raccolta passi attraverso l'inalatore.

Se non altrimenti prescritto nelle istruzioni al paziente, agitare l'inalatore per 5 s e scaricare una volta a perdere. Fissare l'inalatore capovolto nell'apparecchio, abbassando la valvola per un tempo sufficiente ad assicurare uno scarico completo. Ripetere questa operazione finché è stato ottenuto il numero di erogazioni che costituisce la dose minima raccomandata. Raccogliere quantitativamente i contenuti dell'apparecchio e determinare la quantità di principio attivo.

Ripetere l'operazione per altre due dosi.

Scaricare il sistema a perdere, aspettare non meno di 5 s fra le attivazioni finché rimangono $(n/2) + 1$ erogazioni, dove n è il numero di erogazioni fissato in etichetta. Raccogliere quattro dosi usando il procedimento sopra descritto.

Scaricare il sistema a perdere, aspettando non meno di 5 s fra le attivazioni, finché rimangono tre dosi. Raccogliere queste tre dosi con il procedimento sopra descritto.

Per preparazioni che contengono più di un principio attivo, effettuare il saggio per l'uniformità di dose rilasciata per ogni principio attivo.

Se non diversamente giustificato e autorizzato, la preparazione soddisfa al saggio se nove su dieci risultati sono compresi tra il 75 per cento e il 125 per cento del valore medio e tutti sono compresi tra il 65 e il 135 per cento. Se due o tre valori sono fuori dei limiti compresi tra il 75 e il 125 per cento, ripetere il saggio per altri due inalatori. Non più di tre dei trenta valori sono fuori dei limiti compresi tra il 75 e il 125 per cento e nessuno dei valori è situato fuori dei limiti compresi tra il 65 e il 135 per cento.

Dose di particelle fini. Usando un apparecchio e il procedimento descritti nel testo *Valutazione aerodinamica di particelle fini (2.9.18 - Apparecchiatura C, D o E)*, calcolare la dose di particelle fini.

Numero di erogazioni per inalatore. Prendere un inalatore e scaricare i contenuti a perdere, attivando la valvola ad intervalli di non meno di 5 s. Il numero totale di dosi così rilasciate dall'inalatore non è inferiore al numero riportato in etichetta. (Questo saggio può essere combinato con il saggio per l'uniformità di dose rilasciata).

Polveri per inalazione

DEFINIZIONE

Le polveri per inalazione sono presentate come polveri a dose unica o polveri multidose. Per facilitare il loro uso, i principi attivi possono essere combinati con un adatto veicolo. Si somministrano generalmente per mezzo di inalatori di polvere. Nei sistemi pre-dosati, l'inalatore è caricato con polveri predistribuite in capsule o altre forme farmaceutiche adatte. Per sistemi a serbatoio, la dose è prodotta da una unità dosatrice dentro l'inalatore.

La dose rilasciata è la dose rilasciata dall'inalatore. Per alcune preparazioni, la dose è stata stabilita come dose misurata o come dose predispensata. La dose misurata si determina aggiungendo la quantità depositata entro il sistema alla dose erogata. Può anche essere determinata direttamente.

SAGGI

Uniformità della dose rilasciata. In tutti i casi, preparare l'inalatore come indicato nelle istruzioni per il paziente. L'apparecchio per raccogliere la dose deve essere in grado di raccogliere quantitativamente la dose erogata. Un apparecchio per raccogliere la dose simile

a quello descritto per la valutazione degli inalatori pressurizzati con dosatore può essere usato purché le dimensioni del tubo e del filtro possano consentire la velocità di flusso determinata. Un tubo adatto è definito in Tabella 0671.-1. Connettere il tubo ad un sistema di flusso secondo lo schema specificato in Figura 0671.-2 e in Tabella 0671.-1.

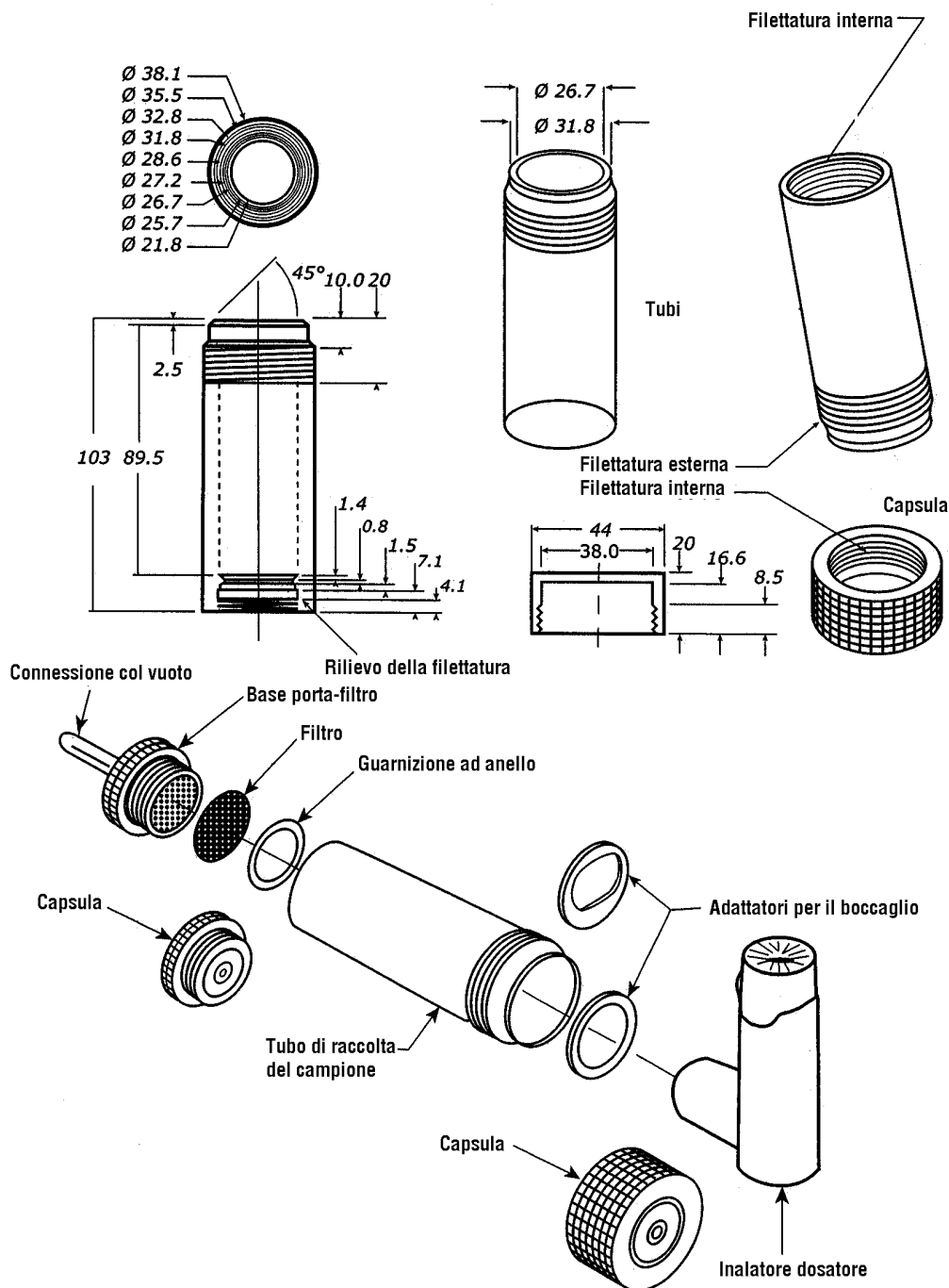


Figura 0671.-1. Apparecchio raccogliitore di dose per preparazioni pressurizzate con dosatore. Dimensioni in millimetri

Forme Farmaceutiche

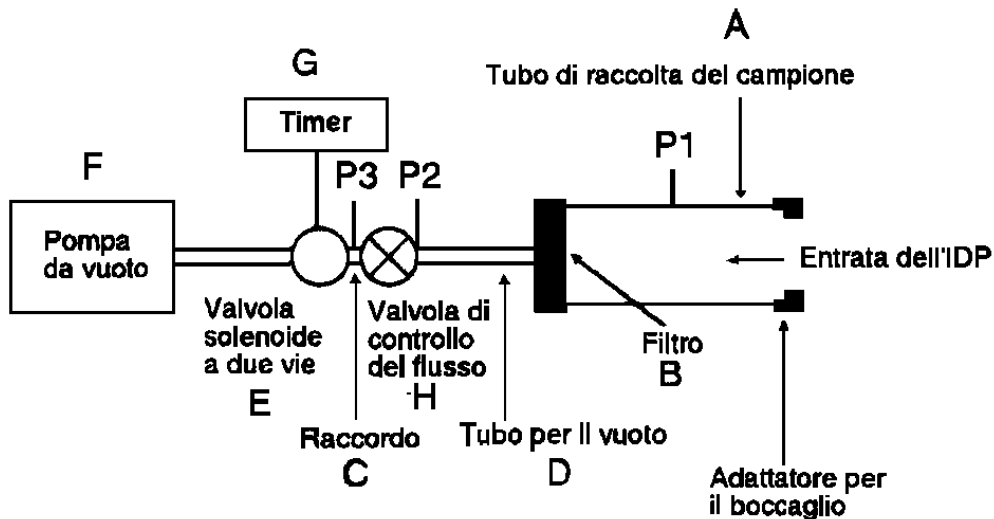


Figura 0671.-2. Apparecchio adatto a misurare l'uniformità della dose rilasciata per inalatori di polveri.

Se non diversamente stabilito, determinare la velocità di flusso e la durata del saggio utilizzando il tubo per raccogliere la dose, il sistema a flusso collegato, un adatto misuratore di pressione e un adatto misuratore volumetrico di flusso, regolato per il flusso che lascia il misuratore, secondo il procedimento seguente.

Preparare l'inalatore per l'uso e connetterlo con l'entrata dell'apparecchio utilizzando un adattatore per il boccaglio per assicurare una chiusura ermetica. Usare un adattatore che assicuri che la parte anteriore del boccaglio inalatore sia a livello con la faccia anteriore del tubo di raccolta del campione. Connettere una apertura di un manometro al punto di lettura della pressione relativa, P1, in Figura 0671.-2, e lasciare che l'altra sia aperta all'atmosfera. Attivare la pompa, aprire la valvola solenoide a due vie e regolare la valvola di controllo del flusso finché la caduta di pressione attraverso l'inalatore è 4,0 kPa (40,8 cm H₂O) come indicato dal manometro. Staccare l'inalatore dall'adattatore per il boccaglio e, senza toccare la valvola di controllo del flusso, connettere un misuratore di flusso all'entrata dell'apparecchio di campionamento.

Usare un misuratore di flusso tarato per il flusso volumetrico che lascia il misuratore, oppure calcolare il flusso volumetrico che lascia il misuratore (Q_{uscita}) utilizzando la legge del gas ideale.

Per un misuratore tarato per il flusso volumetrico in entrata ($Q_{entrata}$) usare l'espressione seguente:

$$Q_{uscita} = \frac{Q_{entrata} \times P_O}{P_O - \Delta P}$$

P_O = pressione atmosferica,

ΔP = caduta di pressione sul misuratore.

Se la velocità di flusso supera i 100 litri al minuto, regolare la valvola di controllo del flusso per ottenere una velocità di flusso di 100 litri al minuto (± 5 per cento). Notare la velocità del flusso d'aria volumetrico che lascia il misuratore e definirla come velocità di flusso del saggio, Q_{uscita} , in litri per minuto.

Definire la durata del saggio di flusso, T , in secondi così che sia aspirato dal boccaglio dell'inalatore un volume di 4 litri di aria alla velocità di flusso del saggio, Q_{uscita} .

Assicurarsi che si abbia il flusso critico nella valvola di controllo del flusso, con il procedimento seguente. Con l'inalatore a posto e la velocità di flusso del saggio Q_{uscita} , misurare la pressione assoluta su entrambi i lati della valvola di controllo (punti di lettura della pressione P2 e P3 in Figura 0671.-2). Un rapporto $P3 / P2 \leq 0,5$ indica il flusso critico. Se non viene indicato flusso critico, regolare la pompa ad una maggiore potenza e misurare di nuovo la velocità di flusso del saggio.

Tabella 0671.-1. Caratteristiche dell'apparecchio usato per inalatori di polveri descritto in Figura 0671.-2.

Codice	Articolo	Descrizione
A	Tubo di raccolta del campione	Idoneo a raccogliere quantitativamente la dose erogata, per esempio Tubo di raccolta della dose simile a quello descritto in Figura 0671.-1 con dimensioni \varnothing int. 34,85 mm per 12 cm di lunghezza (per es. prodotto numero XX40 047 00, Millipore Corporation, Bedford, MA 01732 con tubo di uscita modificato, \varnothing int. ≥ 8 mm, adattato con un prodotto Gelman numero 61631) o equivalente.
B	Filtro	Filtro di 47 mm, per es. Filtro di fibre di vetro A/E (Gelman Sciences, Ann Arbor, MI 48106), o equivalente.
C	Raccordo	\varnothing int. ≥ 8 mm, per es. un breve collegamento metallico con branca a basso diametro a P3.
D	Tubo da vuoto	Un pezzo di tubo adatto, con \varnothing int. ≥ 8 mm e volume interno di 25 ± 5 ml.
E	Valvola solenoide a due vie	Una valvola solenoide a due vie, due entrate con un orificio che offra resistenza minima al flusso d'aria con \varnothing int. ≥ 8 mm e un tempo di apertura di 100 ms (per es., tipo 256-A08, Bürkert GmbH, D-74653 Ingelfingen) o equivalente.
F	Pompa da vuoto	La pompa deve essere capace di aspirare la richiesta velocità di flusso attraverso l'apparecchio montato con l'inalatore di polvere nell'adattatore del boccaglio (per es. prodotto tipo 1023, 1423 o 2565, Gast Manufacturing Inc., Benton Harbor, MI 49022) o equivalente. Connettere la pompa alla valvola solenoide a due vie usando un tubo da vuoto corto e/o largo (≥ 10 mm \varnothing int.) e raccordi per rendere minimi i requisiti di capacità della pompa.
G	Timer	Un timer capace di regolare la valvola solenoide a due vie per il periodo di tempo richiesto (per es. tipo G814, RS Components International, Corby, NN17 9RS, UK), o equivalente.
P1	Rubinetto per la pressione	2,2 mm \varnothing int., 3,1 mm \varnothing est. allineato con la superficie interna del tubo di raccolta del campione, centrato e senza bavature, 59 mm dalla sua entrata. Il rubinetto per la pressione P1 non deve mai essere aperto all'atmosfera.
P1, P2, P3	Misure di pressione	Pressione relativa all'atmosfera (P1) o pressione assoluta (P2 e P3).
H	Valvola di controllo del flusso	Valvola regolatrice aggiustabile con massimo $C_v \geq 1$, (per es. tipo 8 FV12LNSS, Parker Hannifin plc., Barnstaple, EX31 1NP, UK) o equivalente.

Sistemi predispensati. Preparare l'inalatore come indicato nelle istruzioni al paziente e connetterlo con l'apparecchio usando un adattatore che assicuri una buona chiusura. Aspirare aria attraverso l'inalatore usando le condizioni predeterminate. Ripetere il procedimento finché è stato raccolto il numero di erogazioni che costituisce la dose minima raccomandata. Raccogliere quantitativamente i contenuti dell'apparecchio e determinare la quantità di principio attivo.

Ripetere il procedimento per ulteriori nove dosi.

Sistemi serbatoio. Preparare l'inalatore come indicato nelle istruzioni al paziente e connetterlo con l'apparecchio usando un adattatore che assicuri una buona chiusura. Aspirare aria attraverso l'inalatore usando le condizioni predeterminate. Ripetere il procedimento finché è stato raccolto il numero di erogazioni che costituisce la dose minima raccomandata. Raccogliere quantitativamente i contenuti dell'apparecchio e determinare la quantità di principio attivo.

Ripetere il procedimento per ulteriori due dosi.

Scaricare il sistema a perdere finché rimangono $(n/2) + 1$ erogazioni, dove n è il numero di erogazioni fissate in etichetta. Se necessario, fare riposare l'inalatore per scaricare le cariche elettrostatiche. Raccogliere quattro dosi col procedimento descritto sopra.

Scaricare il sistema a perdere finché rimangono tre dosi. Se necessario fare riposare l'inalatore per scaricare le cariche elettrostatiche. Raccogliere tre dosi usando il procedimento descritto sopra.

Per preparazioni contenenti più di un principio attivo, effettuare il saggio per l'uniformità di dose erogata per ciascun principio attivo.

Risultati.

La preparazione soddisfa al saggio se nove dei dieci risultati sono compresi fra il 75 per cento e il 125 per cento del valore medio e tutti sono compresi tra il 65 e il 135 per cento. Se due o tre valori sono fuori dei limiti compresi tra il 75 e il 125 per cento, ripetere il saggio per altri due inalatori. Non più di tre dei trenta valori sono fuori dei limiti compresi tra il 75 e il 125 per cento e nessuno dei valori è situato fuori dei limiti compresi tra il 65 e il 135 per cento.

In casi giustificati e autorizzati, questi limiti possono essere allargati, ma nessun valore deve essere maggiore del 150 per cento o inferiore al 50 per cento del valore medio.

Dose di particelle fini. Usando l'apparecchio e il procedimento descritti nel testo *Valutazione aerodinamica di particelle fini* (2.9.18 - *Apparecchiatura C, D o E*), calcolare la dose di particelle fini.

Numero di erogazioni per inalatore per inalatori multi-dose. Scaricare le dosi dall'inalatore ad una predeterminata velocità di flusso, finché è vuoto. Registrare i rilasci scaricati. Il numero totale di dosi rilasciate non è inferiore al numero stabilito in etichetta. (Questo saggio può essere combinato con il saggio per l'uniformità di dose rilasciata).

PREPARAZIONI PER IRRIGAZIONE

Praeparationes ad irrigationem

DEFINIZIONE

Le preparazioni per irrigazione sono preparazioni acquose sterili di grande volume destinate ad essere impiegate per l'irrigazione di cavità corporee, ferite e superfici, ad esempio durante interventi chirurgici.

Le preparazioni per irrigazione sono costituite da soluzioni preparate disciogliendo uno o più principi attivi, elettroliti o sostanze osmoticamente attive in acqua conforme alle specifiche riportate nella monografia *Acqua per preparazioni iniettabili (0169)* oppure sono costituite esclusivamente da tale acqua. In quest'ultimo caso, la preparazione può essere definita in etichetta come acqua per irrigazione. Le soluzioni per irrigazione generalmente sono rese isotoniche con il sangue.

Esaminate in adeguate condizioni di visibilità, le preparazioni per irrigazione sono limpide e praticamente esenti da particelle.

Le preparazioni per irrigazione sono fornite in contenitori a dose unica. I contenitori e le chiusure sono conformi alle specifiche riportate per i contenitori per le preparazioni per uso parenterale (3.2.1 e 3.2.2) ma l'apertura del contenitore per la somministrazione non è adattabile ai dispositivi utilizzati per la somministrazione endovenosa e non consente che la preparazione per irrigazione sia somministrata con tali dispositivi.

PRODUZIONE

Le preparazioni per irrigazione si preparano usando materiali e metodi che assicurano la sterilità ed evitano la contaminazione e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Durante lo sviluppo deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dal contenitore.

SAGGI

Sterilità (2.6.1). Le preparazioni per irrigazione soddisfano al saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,5 U.I. di endotossine per millilitro.

Pirogeni (2.6.8). Le preparazioni per le quali non può essere effettuato un saggio convalidato per le endotossine batteriche, soddisfano al saggio dei pirogeni. Se non diversamente giustificato e autorizzato, iniettare 10 ml di preparazione per chilogrammo di massa dei conigli.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- che la preparazione non deve essere usata per iniezione,
- che la preparazione deve essere usata in una sola volta e che ogni parte non utilizzata della stessa deve essere scartata.

1145

PREPARAZIONI RETTALI

Rectalia

DEFINIZIONE

Le preparazioni rettali sono preparazioni destinate all'uso rettale allo scopo di ottenere un effetto sistemico o locale, oppure possono essere destinate a fini diagnostici.

Se del caso, i contenitori per le preparazioni rettali soddisfano alle specifiche per i *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori (3.1. e sottosezioni)* e *Contenitori (3.2. e sottosezioni)*.

Si possono distinguere varie categorie di preparazioni rettali:

- supposte,
- capsule rettali,
- soluzioni, emulsioni e sospensioni rettali,
- polveri e compresse per soluzioni e sospensioni rettali,
- preparazioni semisolide rettali,
- schiume rettali,
- tamponi rettali.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione rettale, la cui formulazione contenga un antimicrobico, deve essere dimostrata, in modo esauriente, all'autorità competente la necessità e l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo metodo con i criteri per la valutazione delle

proprietà conservanti della formulazione è riportato nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica (5.1.3)*.

Durante la fase di sviluppo delle preparazioni rettali liquide e semisolide fornite in contenitori a dose unica deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dai contenitori stessi.

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle preparazioni rettali, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

Nella produzione di preparazioni rettali semisolide e liquide contenenti particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40). Le preparazioni rettali liquide e semisolide a dose unica soddisfano al saggio. Le preparazioni rettali solide a dose unica soddisfano al saggio o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato ed autorizzato, le preparazioni a dose unica con un contenuto in principio attivo inferiore a 2 mg o al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio A (compresse) o al saggio B (supposte, capsule rettali) per l'uniformità di contenuto di preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei principi attivi che corrispondono alle condizioni di cui sopra.

Uniformità di massa (2.9.5). Le preparazioni solide a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Dissoluzione. Può essere effettuato un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi da preparazioni solide a dose unica, per esempio il saggio di *Dissoluzione per le forme farmaceutiche specifiche solide lipofile (2.9.42)*.

Se è prescritto un saggio di dissoluzione, può non essere richiesto un saggio di disaggregazione.

ETICHETTE

L'etichetta indica il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

Supposte

DEFINIZIONE

Le supposte sono preparazioni solide a dose unica. La forma, il volume e la consistenza delle supposte sono adatti alla somministrazione rettale.

Le supposte contengono uno o più principi attivi dispersi o disciolti in una adatta base che può essere solubile, dispersibile in acqua o che può fondere alla temperatura corporea. Eccipienti quali diluenti, adsorbenti, tensioattivi, lubrificanti, conservanti antimicrobici e coloranti, autorizzati dall'autorità competente, possono essere aggiunti se necessario.

PRODUZIONE

Le supposte sono preparate per compressione o per fusione. Se necessario, il o i principi attivi vengono dapprima macinati e setacciati attraverso un setaccio appropriato. La preparazione per fusione prevede che la massa medicamentosa, sufficientemente liquefatta per riscaldamento, sia colata in appositi stampi e quindi lasciata solidificare per raffreddamento. Per questo processo sono disponibili diversi eccipienti quali grassi solidi, macrogol, burro di cacao e varie miscele a consistenza gelatinosa costituite, per esempio, da gelatina, acqua e glicerolo. Si effettua la determinazione del punto di rammollimento di supposte lipofile (2.9.22).

Si effettua un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi da supposte destinate al rilascio modificato oppure ad un'azione locale prolungata.

Nella produzione di supposte contenenti particelle disperse, sono prese misure adatte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle.

SAGGI

Disaggregazione. Se non sono destinate al rilascio modificato del principio attivo o ad un'azione locale prolungata, soddisfano al saggio *Disaggregazione delle supposte e degli ovuli* (2.9.2). Se non diversamente giustificato ed autorizzato, esaminare le supposte costituite da un eccipiente grasso dopo 30 min e quelle costituite da un eccipiente idrosolubile dopo 60 min.

Capsule rettali

DEFINIZIONE

Le capsule rettali sono preparazioni solide a dose unica generalmente simili alle capsule molli descritte nella monografia *Capsule (0016)* tranne per il fatto che possono avere un rivestimento lubrificante. Hanno forma allungata, sono lisce e di aspetto uniforme.

PRODUZIONE

Si effettua un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi dalle capsule rettali destinate al rilascio modificato oppure ad un'azione locale prolungata.

SAGGI

Disaggregazione. Se non sono destinate al rilascio modificato del principio attivo o ad un'azione locale prolungata, soddisfano al saggio *Disaggregazione delle supposte e degli ovuli* (2.9.2). Se non diversamente giustificato ed autorizzato, esaminare lo stato delle capsule dopo 30 min.

Soluzioni, emulsioni e sospensioni rettali

DEFINIZIONE

Le soluzioni, le emulsioni e le sospensioni rettali sono preparazioni liquide destinate all'uso rettale allo scopo di ottenere un effetto locale o sistemico, oppure possono essere usate a fini diagnostici.

Sono preparazioni fornite in contenitori a dose unica e contengono uno o più principi attivi disciolti o dispersi in acqua, glicerolo, macrogol o altri adatti solventi. Le emulsioni possono evidenziare una separazione di fase ma sono facilmente ridisperse per agitazione. Le sospensioni possono presentare un sedimento che si disperde facilmente dopo agitazione per dare una sospensione che rimane sufficientemente stabile da permettere la somministrazione di una corretta dose.

Le soluzioni, le emulsioni e le sospensioni rettali possono contenere eccipienti, ad esempio per regolare la viscosità della preparazione, aggiustare o stabilizzare il pH, aumentare la solubilità del o dei principi attivi o stabilizzare la preparazione. Queste sostanze non influenzano negativamente l'azione terapeutica prevista o, alle concentrazioni impiegate, non hanno azione irritante a livello locale.

Le soluzioni, le emulsioni e le sospensioni rettali sono confezionate in recipienti di volume compreso tra 2,5 ml e 2000 ml. Il contenitore è tale da consentire la somministrazione rettale o è dotato di un adatto applicatore.

Polveri e compresse per soluzioni e sospensioni rettali

DEFINIZIONE

Le polveri e le compresse per la preparazione di soluzioni o sospensioni rettali sono preparazioni a dose unica da disciogliere o disperdere in acqua o altri adeguati solventi al momento della somministrazione. Possono contenere eccipienti per facilitare la dissoluzione o la dispersione o per prevenire l'aggregazione delle particelle.

Dopo dissoluzione o sospensione, soddisfano alle specifiche per le soluzioni o le sospensioni rettali, rispettivamente.

SAGGI

Disaggregazione. Le compresse per soluzioni o sospensioni rettali soddisfano al saggio di disaggregazione delle compresse e delle capsule (2.9.1) ma utilizzando acqua R a temperature comprese tra 15 °C e 25 °C. Effettuare il saggio su 6 compresse. Esaminare lo stato delle compresse dopo 3 min. Le compresse soddisfano al saggio se tutte le 6 compresse si sono disintegrate.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il metodo di preparazione della soluzione o della sospensione rettale,
- le condizioni e il periodo di conservazione della soluzione o sospensione dopo ricostituzione.

Preparazioni semisolide rettali

DEFINIZIONE

Le preparazioni semisolide rettali sono unguenti, creme o geli. Spesso sono confezionate come preparazioni a dose unica in contenitori dotati di un adatto applicatore.

Le preparazioni semisolide rettali soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea* (0132).

Schiume rettali

DEFINIZIONE

Le schiume rettali soddisfano alle specifiche della monografia *Schiume medicate* (1105).

Tamponi rettali

DEFINIZIONE

I tamponi rettali sono preparazioni solide a dose unica destinate ad essere introdotte nella parte inferiore del retto per un limitato periodo di tempo.

Soddisfano alle specifiche della monografia *Tamponi medicati* (1155).

0132

PREPARAZIONI SEMISOLIDE PER APPLICAZIONE CUTANEA

Praeparationes molles ad usum dermicum

Le specifiche di questa monografia si applicano a tutte le preparazioni semisolide per applicazione cutanea. Se del caso, ulteriori specifiche per preparazioni semisolide da applicare a superfici particolari o mucose si possono trovare in altre monografie generali, per esempio: Preparazioni auricolari (0652), Preparazioni oftalmiche (1163), Preparazioni nasali (0676), Preparazioni rettali (1145) e Preparazioni vaginali (1164).

DEFINIZIONE

Le preparazioni semisolide per applicazione cutanea sono destinate al rilascio locale o transdermico di principi attivi, oppure hanno azione emolliente o protettiva. Hanno aspetto omogeneo.

Le preparazioni semisolide per applicazione cutanea sono costituite da una base semplice o composta in cui, usualmente, sono disciolti o dispersi uno o più principi attivi. Secondo la sua composizione, la base può influenzare l'azione della preparazione.

Le basi possono essere costituite da sostanze naturali o sintetiche e possono essere sistemi ad una fase o multi-fase. Secondo la natura della base, la preparazione può avere carattere idrofilo o idrofobo (lipofilo), può conte-

neri additivi adatti come antimicrobici, antiossidanti, stabilizzanti, emulsionanti, addensanti e sostanze che aumentano l'assorbimento.

Le preparazioni semisolide per applicazione cutanea destinate all'uso su pelle gravemente danneggiata sono sterili.

Se del caso, i contenitori per preparazioni semisolide per applicazione cutanea soddisfano alle specifiche per *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2 e sottosezioni).

Si possono distinguere varie categorie di preparazioni semisolide per applicazione cutanea:

- unguenti,
- creme,
- gel,
- paste,
- cataplasmi,
- impiastrici medicati.

Secondo la loro struttura, unguenti, creme e gel generalmente hanno un comportamento viscoelastico ed un carattere non-newtoniano, per esempio un flusso di tipo plastico, pseudoplastico o tissotropico ad alte velocità di taglio. Le paste spesso mostrano un flusso dilatante.

PRODUZIONE

Durante lo sviluppo di una preparazione semisolida per applicazione cutanea la cui formulazione contenga un antimicrobico, dovrà essere dimostrata in modo esauriente all'autorità competente la necessità e l'efficacia del conservante scelto. Un idoneo saggio insieme con i criteri per la valutazione delle proprietà conservanti della formulazione sono riportati nel testo *Efficacia della conservazione antimicrobica* (5.1.3). Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione delle preparazioni semisolide per applicazione cutanea si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

Le preparazioni semisolide per applicazione cutanea sterili si preparano utilizzando materiali e metodi in grado di assicurare la sterilità e di evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Durante lo sviluppo deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dal contenitore delle preparazioni semisolide per applicazione cutanea fornite in contenitori a dose unica.

Nella produzione di preparazioni semisolide per applicazione cutanea, si adottano opportune misure atte ad assicurare che siano soddisfatte le proprietà reologiche fissate. Se del caso, si possono effettuare i seguenti saggi non obbligatori: misura della consistenza per penetrometria (2.9.9), viscosità (viscosità apparente) (2.2.10) e un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio del/dei principi attivi.

Nella produzione di preparazioni semisolide per applicazione cutanea che contengono uno o più principi attivi che non sono disciolti nella base (per esempio emulsioni o sospensioni) si adottano misure in grado di assicurare un'appropriata omogeneità della preparazione che viene rilasciata.

Nella produzione di preparazioni semisolide per applicazione cutanea che contengono particelle disperse, sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle in relazione all'uso previsto.

Uniformità delle unità di dosaggio. Le preparazioni semisolide, fornite in contenitori a dose unica, che costituiscono una dose di prodotto medicinale per uso transdermico ad effetto sistemico soddisfano al saggio dell'uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40). Le preparazioni semisolide nelle quali la sostanza attiva è disciolta soddisfano al saggio della variazione di massa; le preparazioni semisolide nelle quali la sostanza attiva è sospesa soddisfano al saggio dell'uniformità di contenuto. Applicare le procedure descritte per le forme farmaceutiche liquide. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in queste forme farmaceutiche non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

SAGGI

Sterilità (2.6.1). Quando l'etichetta indica che la preparazione è sterile, questa soddisfa al saggio di sterilità.

CONSERVAZIONE

Se la preparazione contiene acqua o altri ingredienti volatili, conservare in un recipiente ermeticamente chiuso. Se la preparazione è sterile, conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto,
- se del caso, che la preparazione è sterile.

Unguenti

DEFINIZIONE

Un unguento è costituito da una base monofasica in cui possono essere disperse sostanze solide o liquide.

Unguenti idrofobi

Gli unguenti idrofobi (lipofili) possono assorbire solo piccole quantità di acqua. Tipiche sostanze usate per la loro formulazione sono paraffine solide, semisolide e liquide, oli vegetali, grassi animali, gliceridi sintetici, cere e polialchilsilossani liquidi.

Unguenti che emulsionano acqua

Gli unguenti che emulsionano acqua possono assorbire maggiori quantità di acqua e formare perciò emulsioni acqua-in-olio (A/O) oppure emulsioni olio-in-acqua (O/A) secondo la natura dell'emulsionante: a questo scopo si possono usare agenti emulsionanti A/O come alcoli della lana, esteri del sorbitano, monogliceridi e alcoli grassi oppure emulsionanti O/A come solfati di alcoli grassi, polisorbati, macrogol cetostearil etere o esteri di acidi grassi con macrogol. Le loro basi sono quelle degli unguenti idrofobi.

Unguenti idrofili

Gli unguenti idrofili sono preparazioni che hanno basi miscibili con l'acqua. Le basi usualmente sono miscele di macrogol (polietilenglicoli) liquidi e solidi. Possono contenere appropriate quantità di acqua.

Creme

DEFINIZIONE

Le creme sono preparazioni multifase costituite da una fase lipofila e da una fase acquosa.

Crema idrofobe

Le creme idrofobe (o lipofile) hanno come fase continua la fase lipofila. Contengono emulsionanti acqua-in-olio (A/O) come alcoli della lana, esteri del sorbitano e monogliceridi.

Crema idrofile

Le creme idrofile hanno come fase continua la fase acquosa. Contengono emulsionanti olio-in-acqua (O/A) come saponi di sodio o di trietanolamina, solfati di alcoli grassi, polisorbati ed esteri di acidi grassi poliossidrilati con alcoli grassi associati, se necessario, con emulsionanti acqua-in-olio (A/O).

Gel

DEFINIZIONE

I gel sono costituiti da liquidi gelificati per mezzo di opportuni gelificanti.

Gel idrofobi

I gel idrofobi (oleogel) sono preparazioni le cui basi usualmente sono costituite da paraffina liquida con polietilene od oli grassi gelificati con silice colloidale o saponi di alluminio o di zinco.

Gel idrofili

I gel idrofili (idrogel) sono preparazioni le cui basi solitamente contengono acqua, glicerolo o glicole propilenico, gelificati con adatte sostanze come poloxameri, amido, derivati della cellulosa, polimeri carbossivinilici e silicati di magnesio-alluminio.

Paste

DEFINIZIONE

Le paste sono preparazioni semisolide per applicazioni cutanee che contengono, finemente dispersi nella base, solidi in grandi proporzioni.

Cataplasmi

DEFINIZIONE

I cataplasmi consistono di una base idrofila, che trattiene il calore, in cui sono dispersi principi attivi solidi o liquidi. Sono usualmente spalmati in strato spesso su una tela adatta e scaldati prima dell'applicazione alla pelle.

Impiastri medicati

DEFINIZIONE

Gli impiastri medicati sono preparazioni flessibili che contengono uno o più principi attivi. Sono destinati ad essere applicati alla pelle. Sono preparati per mantenere i principi attivi in stretto contatto con la pelle così che possano essere assorbiti lentamente oppure agire come protettivi o cheratolitici.

Gli impiastri medicati sono costituiti da una base adesiva, che può essere colorata, contenente uno o più principi attivi, spalmata come strato uniforme su un appropriato supporto fatto di prodotti naturali o sintetici. Non è irritante o sensibilizzante per la pelle. Lo strato adesivo è coperto con un adatto rivestimento protettivo che si toglie prima di applicare l'impiastro alla pelle. Quando si toglie, il rivestimento protettivo non deve staccare la preparazione dallo strato esterno di sostegno.

Gli impiastri medicati sono presentati in una varietà di misure adatte al loro uso previsto oppure in fogli più grandi da tagliare prima dell'uso. Aderiscono saldamente alla pelle applicando una lieve pressione e possono essere tolti senza causare danno apprezzabile alla pelle o il distacco della preparazione dallo strato esterno di supporto.

SAGGI

Dissoluzione. Può essere necessario un saggio adatto a dimostrare l'appropriato rilascio dei principi attivi, per esempio uno dei saggi descritti nel *Saggio di dissoluzione per i cerotti transdermici* (2.9.4).

1164

PREPARAZIONI VAGINALI

Vaginalia

DEFINIZIONE

Le preparazioni vaginali sono preparazioni liquide, semisolide o solide destinate alla somministrazione in vagina, generalmente per ottenere un effetto locale. Contengono, in una base opportuna, uno o più principi attivi.

Se del caso, i contenitori per preparazioni vaginali soddisfano alle specifiche dei *Materiali usati per la fabbricazione di contenitori* (3.1 e sottosezioni) e *Contenitori* (3.2 e sottosezioni).

Si possono distinguere diverse categorie di preparazioni vaginali:

- ovuli,
- compresse vaginali,
- capsule vaginali,
- soluzioni, emulsioni e sospensioni vaginali,
- compresse per soluzioni e sospensioni vaginali,
- preparazioni vaginali semisolide,
- schiume vaginali,
- tamponi vaginali medicati.

PRODUZIONE

Durante la fase di sviluppo delle preparazioni vaginali liquide e semisolide fornite in contenitori a dose unica deve essere dimostrato che il contenuto nominale può essere prelevato dai contenitori stessi.

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e nella distribuzione di preparazioni vaginali, si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

SAGGI

Uniformità delle unità di dosaggio (2.9.40). Le preparazioni vaginali liquide e semisolide soddisfano al saggio. Le preparazioni vaginali solide a dose unica soddisfano al saggio o, se giustificato ed autorizzato, al saggio per l'uniformità di contenuto e/o al saggio di uniformità di massa descritti qui di seguito. Le droghe vegetali e le preparazioni a base di droghe vegetali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Tali presenti in questa forma farmaceutica non sono soggette alle disposizioni di questo paragrafo.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Se non è diversamente prescritto o giustificato e autorizzato, le preparazioni solide a dose unica con un contenuto in principio attivo

inferiore a 2 mg o inferiore al 2 per cento della massa totale soddisfano al saggio A (compresse vaginali) o al saggio B (ovuli, capsule vaginali) per l'uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica. Se la preparazione ha più di un principio attivo, la specifica si applica solo a quei componenti che corrispondono alle condizioni di cui sopra.

Uniformità di massa (2.9.5). Le preparazioni vaginali solide a dose unica soddisfano al saggio per l'uniformità di massa di preparazioni a dose unica. Se per tutti i principi attivi è prescritto il saggio per l'uniformità di contenuto, il saggio per l'uniformità di massa non è richiesto.

Dissoluzione. Può essere effettuato un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi da preparazioni solide a dose unica, per esempio uno dei saggi descritti nel testo *Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3)*.

Se è prescritto un saggio di dissoluzione, può non essere richiesto un saggio di disaggregazione.

Ovuli

DEFINIZIONE

Gli ovuli sono preparazioni solide a dose unica. Hanno forme diverse, di solito ovoidale, con volume e consistenza idonei all'inserimento nella vagina. Contengono uno o più principi attivi dispersi o disciolti in una base adatta che può essere solubile o dispersibile in acqua o può fondere a temperatura corporea. Se necessario, possono essere addizionati eccipienti come diluenti, assorbenti, tensioattivi, lubrificanti, antimicrobici e coloranti autorizzati dall'autorità competente.

PRODUZIONE

Gli ovuli sono usualmente preparati per fusione. Se del caso, nella produzione di ovuli sono prese misure atte ad assicurare una idonea e controllata dimensione delle particelle del o dei principi attivi. Se necessario, i principi attivi sono prima macinati e setacciati attraverso adatto setaccio.

Quando è preparata per fusione, la massa medicata, sufficientemente liquefatta per riscaldamento, viene versata in adatti stampi, dove solidifica per raffredda-

mento. Per questo procedimento sono disponibili molti eccipienti come grassi solidi, macrogol, burro di cacao e varie miscele gelatinose costituite, per esempio, di gelatina, acqua e glicerolo.

Si effettua un saggio idoneo a dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi da ovuli destinati a rilascio modificato oppure ad azione locale prolungata.

SAGGI

Disaggregazione. Se non sono destinati ad azione locale prolungata, soddisfano al saggio *Disaggregazione delle supposte e degli ovuli (2.9.2)*. Se non diversamente giustificato ed autorizzato, esaminare lo stato degli ovuli dopo 60 min.

Compresse vaginali

DEFINIZIONE

Le compresse vaginali sono preparazioni solide a dose unica. Generalmente sono conformi alle definizioni di compresse non rivestite o rivestite con film, riportate nella monografia *Compresse (0478)*.

PRODUZIONE

Si effettua un saggio opportuno per dimostrare l'appropriato rilascio del o dei principi attivi da compresse vaginali destinate ad azione locale prolungata.

SAGGI

Disaggregazione. Se non sono destinate ad azione locale prolungata, soddisfano al saggio di disaggregazione delle supposte e degli ovuli (metodo specifico per compresse vaginali (2.9.2)). Se non diversamente giustificato e autorizzato, esaminare lo stato delle compresse dopo 30 min.

Capsule vaginali

DEFINIZIONE

Le capsule vaginali sono preparazioni solide a dose unica. Generalmente sono simili alle capsule molli, differendone solo nella forma e nella dimensione. Le capsule vaginali hanno forme diverse, generalmente ovoidale; sono lisce e di aspetto uniforme.

PRODUZIONE

Si effettua un saggio idoneo a dimostrare l'appropriateo rilascio del o dei principi attivi dalle capsule vaginali destinate ad un'azione locale prolungata.

SAGGI

Disaggregazione. Se non sono destinate ad azione locale prolungata, soddisfano al saggio *Disaggregazione delle supposte e degli ovuli (2.9.2)*. Se non diversamente giustificato e autorizzato, esaminare lo stato delle capsule dopo 30 min.

Soluzioni, emulsioni e sospensioni vaginali

DEFINIZIONE

Le soluzioni, le emulsioni e sospensioni vaginali sono preparazioni liquide destinate ad esercitare un effetto locale, per irrigazione o per scopi diagnostici. Possono contenere eccipienti, per esempio per regolare la viscosità della preparazione, per regolare o stabilizzare il pH, per aumentare la solubilità del o dei principi attivi o per stabilizzare la preparazione. Gli eccipienti non influenzano negativamente l'azione farmacologica prevista o, alle concentrazioni usate, non causano irritazione locale.

Le emulsioni vaginali possono evidenziare separazione di fase ma si ridisperdono facilmente per agitazione. Le sospensioni vaginali possono mostrare un sedimentazione che è facilmente ridisperso per agitazione, a dare una sospensione che rimane sufficientemente stabile per consentire il rilascio di una preparazione omogenea.

Sono fornite in contenitori a dose singola. Il contenitore è adattato a rilasciare la preparazione nella vagina oppure è accompagnato da un adatto applicatore.

PRODUZIONE

Nella produzione di sospensioni vaginali si prendono misure atte a garantire una adatta e controllata dimensione delle particelle, in relazione all'uso previsto.

Compresse per soluzioni e sospensioni vaginali

DEFINIZIONE

Le compresse destinate alla preparazione di soluzioni e sospensioni vaginali sono preparazioni a dose unica che sono disciolte o disperse in acqua al momento della somministrazione. Possono contenere eccipienti per facilitare la dissoluzione o dispersione o per prevenire la sedimentazione.

A parte il saggio di disaggregazione, le compresse per soluzioni o sospensioni vaginali corrispondono alla definizione di *Compresse (0478)*.

Dopo dissoluzione o dispersione soddisfano alle specifiche per soluzioni o sospensioni vaginali, secondo il caso.

SAGGI

Disaggregazione. Le compresse per soluzioni o sospensioni vaginali soddisfano al saggio per la disaggregazione di compresse e capsule (2.9.1), ma usando *acqua R* a temperatura compresa tra 15 °C e 25 °C. Effettuare il saggio su 6 compresse. Esaminare lo stato delle compresse dopo 3 min. Le compresse soddisfano al saggio se tutte le 6 compresse si sono disaggregate.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il metodo di preparazione della soluzione o sospensione vaginale,
- le condizioni e la durata di conservazione della soluzione o sospensione dopo costituzione.

Preparazioni vaginali semisolide

DEFINIZIONE

Le preparazioni vaginali semisolide sono pomate, creme o geli.

Sono spesso fornite in contenitori a dose singola. Il contenitore è dotato di adatto applicatore.

Le preparazioni vaginali semisolide soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*.

Schiume vaginali

DEFINIZIONE

Le schiume vaginali soddisfano alle specifiche della monografia *Schiume medicate (1105)*.

Tamponi vaginali medicati

DEFINIZIONE

I tamponi vaginali medicati sono preparazioni solide, a dose unica, destinate ad essere inserite nella vagina per un periodo di tempo limitato.

I tamponi vaginali medicati soddisfano alle specifiche della monografia *Tamponi medicati (1155)*.

1105

SCHIUME MEDICATE

Musci medicati

Ulteriori specifiche per le schiume medicate si possono trovare, se del caso, in altre monografie generali, per esempio: Preparazioni rettali (1145), Preparazioni vaginali (1164) e Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

Le schiume medicate sono preparazioni costituite da grandi volumi di gas disperso in un liquido generalmente contenente uno o più principi attivi, un tensioattivo che assicuri la loro formazione e vari altri eccipienti. Sono di solito destinate ad essere applicate sulla cute o sulle mucose.

Le schiume medicate si formano generalmente al momento della somministrazione da una preparazione

liquida contenuta in un contenitore pressurizzato. Il contenitore è dotato di un dispositivo costituito da una valvola e da un tasto a pressione, adatto per l'erogazione della schiuma.

Le schiume medicate destinate ad essere impiegate su pelle gravemente lesa e su ferite aperte, sono sterili.

Le schiume medicate confezionate in contenitori pressurizzati soddisfano alle specifiche della monografia *Preparazioni farmaceutiche pressurizzate (0523)*.

PRODUZIONE

Le schiume medicate sterili si preparano usando materiali e metodi che assicurano la sterilità ed evitano la contaminazione e la crescita di microrganismi; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Metodi di preparazione di prodotti sterili (5.1.1)*.

SAGGI

Densità relativa della schiuma. Mantenere il contenitore a circa 25 °C per almeno 24 h. Avendo cura di non farne aumentare la temperatura, inserire nel tasto erogatore un tubo rigido lungo da 70 mm a 100 mm con un diametro interno di circa 1 mm. Agitare il contenitore per rendere omogenea la fase liquida del suo contenuto ed erogare da 5 ml a 10 ml di schiuma a perdere. Tarare un contenitore a fondo piatto avente un volume di circa 60 ml e un'altezza di circa 35 mm. Porre all'angolo del contenitore l'estremità del tubo rigido collegato al tasto erogatore, premere il tasto e riempire uniformemente il contenitore aiutandosi con un movimento circolare. Dopo che la schiuma si è completamente espansa, la si livella rimuovendone l'eccesso con una lamina. Pesare e quindi determinare la massa di un uguale volume di *acqua R* riempiendo con *acqua R* lo stesso contenitore.

La densità relativa della schiuma è equivalente al rapporto:

$$m/e$$

m = massa del campione in esame, in grammi,

e = massa di un uguale volume di *acqua R*, in grammi.

Effettuare tre misurazioni. Nessuno dei singoli valori presenta uno scarto maggiore del 20 per cento rispetto al valore medio.

Durata dell'espansione. L'apparecchio (vedi Figura 1105.-1) è costituito da una buretta da 50 ml, con un diametro interno di 15 mm e una graduazione di 0,1 ml, provvista di un rubinetto con un foro di 4 mm di diametro. La tacca corrispondente a 30 ml è posta ad almeno 210 mm dall'asse del rubinetto. L'estremità inferiore della buretta è collegata per mezzo di un tubo di plastica, lungo non più di 50 mm e con un diametro interno di 4 mm, al contenitore che eroga la schiuma

provvisto di un tasto erogatore adattato per questo collegamento. Mantenere il contenitore a circa 25 °C per almeno 24 h. Agitare il contenitore, avendo cura di non farne aumentare la temperatura, per rendere omogenea la fase liquida del suo contenuto, erogare da 5 ml a 10 ml di schiuma a perdere. Collegare il tasto erogatore all'uscita della buretta. Premere il tasto e introdurre circa 30 ml di schiuma con una singola erogazione. Chiudere il rubinetto e contemporaneamente avviare il cronometro e leggere il volume occupato dalla schiuma nella buretta. Effettuare la lettura ogni 10 s fino a quando si raggiunge il volume massimo.

Effettuare tre misurazioni. Nessuno dei tempi necessari per raggiungere il volume massimo è superiore a 5 min. **Sterilità (2.6.1).** Quando l'etichetta indica che la preparazione è sterile, questa soddisfa al saggio di sterilità.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso, che la preparazione è sterile.

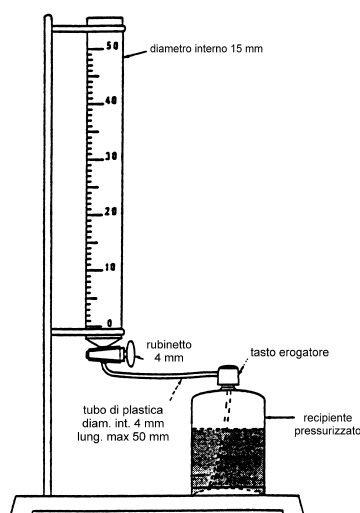


Figura 1105.-1. *Apparecchio per la determinazione della durata dell'espansione*

TAMPONI MEDICATI

Tamponae medicatae

Ulteriori specifiche per i tamponi medicati si possono trovare in altre monografie generali, per esempio: Preparazioni rettali (1145), Preparazioni vaginali (1164) e Preparazioni auricolari (0652).

DEFINIZIONE

I tamponi medicati sono preparazioni solide a dose unica, da inserire nelle cavità del corpo per un limitato periodo di tempo. Sono costituiti da un materiale adatto come cellulosa, collagene o silicone impregnato con uno o più principi attivi.

PRODUZIONE

Nella produzione, nel confezionamento, nella conservazione e distribuzione dei tamponi medicati si adottano opportune misure atte ad assicurare la loro qualità microbiologica; raccomandazioni al riguardo sono fornite nel testo *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

ETICHETTE

L'etichetta indica la quantità del o dei principi attivi per tampone.

Materie prime

A

Acido deidrocolico	945
Acqua altamente depurata	946
Acqua depurata	949
Acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi	952
Acqua per preparazioni iniettabili.....	955
Aminofenazone	960
Aminosidina solfato	961
Antazolina solfato	962
Arancia amara essenza	963
Argento proteinato	965
Attapulgitte attivata	965

B

Belladonna estratto fluido titolato	966
Bergamotto essenza	968
Bromosolfotaleina sodica	970

C

Camomilla estratto idroalcolico secco titolato ..	971
Carciofo estratto secco purificato e quantificato	972
Clofenotano	973

D

Disinfettanti per uso umano o veterinario (anti- settic).....	974
--	-----

F

Ferro ossido giallo.....	977
Ferro ossido rosso	979
Finocchio dolce essenza.....	980

G

Genziana estratto fluido	982
--------------------------------	-----

I

Idrocortisone sodio succinato	982
Ippocastano	984

M

Mandarino essenza	986
Mefenesina	988
Merbromina	988
Mercurio ossido giallo.....	990

N

Niaouli essenza.....	990
Nimorazolo	993
Nitroglicerina	994

O

Octatropina metilbromuro.....	995
-------------------------------	-----

P

Pentetrazolo	996
Potassio iodato	997
Pralidossima metilsolfato	998

R

Rabarbaro estratto fluido	999
Rabarbaro estratto secco	1000

S

Sobrerolo	1001
Sodio indigotindisolfonato.....	1002
Sodio stibogluconato	1003
Sulfadimetoxina	1004
Sulfametopirazina	1005
Suramina sodica	1006

T

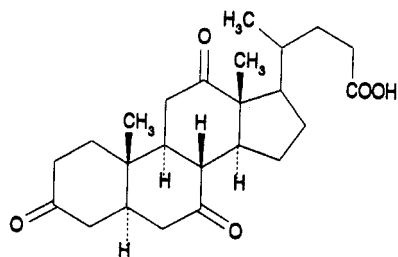
Tiamfenicolo glicinato cloridrato.....	1007
Tossina difterica per uso diagnostico	1009
Trementina essenza medicinale	1010

V

Vaccino tifoideo per uso orale.....	1012
Vaccino vivo da brucella abortus per uso veteri- nario.....	1013

ACIDO DEIDROCOLICO

Acidum dehydrocholicum

 $C_{24}H_{34}O_5$ M_r 402,5

DEFINIZIONE

L'acido deidrocolico contiene non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di acido 3,7,12-trioxo-5 β -colan-24-oico, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere soffice, bianca, praticamente insolubile in acqua, solubile in acido acetico glaciale, in alcool con lieve opalescenza e in cloroformio, moderatamente solubile in etere. Si scioglie nelle soluzioni di idrossidi e carbonati alcalini.

Fonde tra 233 °C e 242 °C o tra 237 °C e 242 °C se impiegato per preparazioni parenterali. L'intervallo tra l'inizio e il termine della fusione non deve essere comunque superiore a 3 °C.

IDENTIFICAZIONE

Prima identificazione: A.

Seconda identificazione: B, C.

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *acido deidrocolico SCR*.
- Disciogliere 5 mg circa in una miscela di 1 ml di *acido solforico R* e una goccia di *formaldeide R* e lasciare a riposo per 5 min. Aggiungere cautamente 5 ml di *acqua R*: la soluzione presenta una colorazione gialla e una fluorescenza blu-verdastro.
- Disciogliere 20 mg circa in 1 ml di *alcool R*. Aggiungere 5 gocce di una soluzione di *dinitrobenzene R* all'1 per cento *m/V* in *alcool R* e 10 gocce di *sodio idrossido soluzione diluita R*: la soluzione sviluppa, entro 1 min, una colorazione da violetta a rosso-violetta.

SAGGI

Aspetto della soluzione. Disciogliere 0,500 g in una miscela di 3,5 ml di *acqua R* e 1,5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*: la soluzione è limpida (2.2.1) e non più intensamente colorata della soluzione di riferimento G₁ (*Metodo I*, 2.2.2).

Acidità e alcalinità. A 0,500 g aggiungere 50 ml di *acqua R*, agitare per 5 min e filtrare. A 10 ml del filtrato aggiungere una goccia di *blu bromofenolo soluzione R*. Il liquido assume una colorazione blu-violetta e vira al giallo-verde o al giallo per aggiunta di 0,5 ml di *acido cloridrico 0,01 M*.

Potere rotatorio specifico (2.2.7). Preparare una soluzione al 2 per cento *m/V* della sostanza in esame in *diossano R*. Il potere rotatorio specifico è compreso tra + 29,0° e + 32,5°.

Bario. Bollire 2,0 g della sostanza in esame con 100 ml di *acqua R* per 2 min, aggiungere 2 ml di *acido cloridrico R* e bollire ancora per 2 min. Raffreddare, filtrare e lavare il filtro con *acqua R* fino ad ottenere 100 ml di filtrato. A 10 ml del filtrato aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R*: non si produce torbidità.

Cloruri (2.3.1). A 5,0 g aggiungere 50 ml di *acqua R*. Agitare per 5 min e filtrare. 15 ml del filtrato soddisfano al saggio limite per i cloruri (100 ppm).

Solfati (2.4.13). A 2,0 g aggiungere 100 ml di *acqua R*, agitare per 5 min e filtrare. A 25 ml della soluzione aggiungere 1 ml di *acido cloridrico diluito R*, scaldare a b.m. per 5 min, raffreddare e filtrare. Lavare il residuo con 10 ml di *acqua R*, riunire le acque di lavaggio al filtrato limpido e diluire la soluzione a 50 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per i solfati (0,045 per cento). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando 0,50 ml di *acido solforico 0,005 M*.

Metalli pesanti (2.4.8). Calcinare 1 g della sostanza in esame e riprendere il residuo con 1 ml di *acido nitrico diluito R*. Evaporare a secco, aggiungere al residuo 1 ml di *acido cloridrico diluito R* e 19 ml di *acqua R* ed eventualmente filtrare. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite B per i metalli pesanti. Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore all'1,0 per cento determinata su 1,0 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C per 2 h.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,2 per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,500 g in una miscela di 40 ml di *alcool R*, neutralizzato alla *fenolfaleina R*, e 20 ml di *acqua R*. Aggiungere ancora una goccia di *fenolfaleina soluzione R* e titolare con *sodio idrossido 0,1 M*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 40,25 mg di $C_{24}H_{34}O_5$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

1927

ACQUA ALTAMENTE DEPURATA

Aqua valde purificata

H₂O

M_r 18,02

DEFINIZIONE

L'acqua altamente depurata è destinata alla preparazione di medicinali per i quali è necessaria acqua di alta qualità biologica, eccetto quelli per cui deve essere impiegata *Acqua per preparazioni iniettabili (0169)*.

PRODUZIONE

L'acqua altamente depurata si prepara a partire da acqua conforme alla normativa prevista dall'autorità competente per l'acqua destinata al consumo umano. I metodi di produzione attuali prevedono per esempio una doppia osmosi inversa associata ad altre tecniche appropriate come l'ultrafiltrazione e la deionizzazione. La corretta gestione e manutenzione del sistema sono di fondamentale importanza.

Per assicurare la qualità appropriata dell'acqua, si devono utilizzare procedure convalidate e si effettuano il monitoraggio in-linea della conduttività elettrica e un regolare monitoraggio della crescita microbica.

L'acqua altamente depurata è conservata e distribuita in condizioni designate a prevenire la crescita di microrganismi e ad evitare ogni altro tipo di contaminazione.

Monitoraggio microbiologico. Durante la produzione e la successiva conservazione debbono essere prese appropriate misure per garantire che la conta microbiologica sia adeguatamente controllata e monitorata. Appropriati livelli di allerta e di intervento vengono stabiliti per individuare evoluzioni indesiderabili. In condizioni normali un appropriato livello di intervento è quello di una conta microbiologica di 100 UFC/ml, determinata mediante filtrazione su una membrana la cui dimensione nominale

dei pori non è più grande di 0,45 μ m, utilizzando agar R2A e almeno 200 ml di acqua altamente purificata e incubando a 30-35 °C per non meno di 5 giorni.

Agar R2A

Estratto di lievito	0,5 g
Peptone proteoso	0,5 g
Idrolizzato di caseina	0,5 g
Glucosio	0,5 g
Amido	0,5 g
Potassio fosfato dibasico	0,3 g
Magnesio solfato amido	0,024 g
Sodio piruvato	0,3 g
Geloso	15,0 g
Acqua depurata q.b.a.	1000 ml

Aggiustare il pH in modo tale che, dopo la sterilizzazione, esso sia $7,2 \pm 0,2$. Sterilizzare riscaldando in autoclave a 121 °C per 15 min.

Fertilità dell'agar R2A

– *Preparazione dei ceppi di riferimento.* Utilizzare delle sospensioni standardizzate stabili di ceppi di riferimento o preparare delle sospensioni come indicato in Tabella 1927.-1.

Le culture vengono effettuate secondo un sistema di lotto di semenza tale che i microrganismi vitali utilizzati per l'inoculazione non abbiano subito più di 5 passaggi a partire dal lotto di semenza primario d'origine.

Far crescere separatamente ciascuno dei ceppi batterici come indicato nella Tabella 1927.-1. Per preparare le sospensioni di riferimento usare sodio cloruro-peptone soluzione tamponata a pH 7,0 oppure tampone fosfato soluzione a pH 7,2. Utilizzare le sospensioni entro 2 h o entro 24 h se conservate a 2 – 8 °C. Come alternative alla preparazione e successiva diluizione di una sospensione fresca di cellule vegetative di *Bacillus subtilis*, si può preparare una sospensione stabile di spore e quindi se ne utilizza un volume appropriato per l'inoculazione. La sospensione di spore stabile può essere mantenuta a 2 – 8 °C per un periodo di tempo convalidato.

– *Saggio di fertilità (Promozione della crescita).* Effettuare il saggio su ciascun lotto del terreno di coltura pronto all'uso e su ciascun lotto del terreno, preparato sia da un terreno disidratato che da ingredienti descritti. Inoculare separatamente piastre di agar R2A con un piccolo numero (non più di 100 UFC) di microrganismi indicati nella Tabella 1927.-1.

Incubare nelle condizioni specificate nella stessa tabella. La crescita ottenuta non deve differire per più di un fattore 2 del valore calcolato per un inoculo standardizzato.

Per un inoculo preparato di recente la crescita dei microrganismi deve essere comparabile a quella osservata con un lotto di un terreno precedentemente controllato e approvato.

Tabella 1927.-1.- Saggio di fertilità dell'agar R2A

Microrganismi	Preparazione dei ceppi di riferimento	Saggio di fertilità
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> per esempio: ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30 – 35 °C 18 – 24 h	Agar R2A ≤100 UFC 30 – 35 °C ≤3 giorni
<i>Bacillus subtilis</i> per esempio: ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30 – 35 °C 18 – 24 h	Agar R2A ≤100 UFC 30 – 35 °C ≤3 giorni

Carbonio organico totale (2.2.44): massimo 0,5 mg/l.

Conduttività. Determinare la conduttività fuori-linea o in-linea nelle seguenti condizioni.

APPARECCHIATURA

Cella di conduttività:

- elettrodi di materiale adatto come ad esempio acciaio;
- costante di cella: la costante della cella è normalmente certificata dal produttore e viene successivamente verificata ad intervalli adeguati utilizzando una soluzione di riferimento certificata avente una conduttività minore di 1500 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o comparandola con un'altra cella avente una costante di cella certificata. La costante della cella è confermata se il valore trovato non differisce più del 2 per cento del valore certificato; in caso contrario la cella deve essere ricalibrata.

Conduttimetro: accuratezza di 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o migliore al limite inferiore dell'intervallo.

Taratura del sistema (cella di conduttività e conduttimetro):

- contro una o più adeguate soluzioni standard certificate;
- accuratezza: entro il 3 per cento della conduttività misurata più 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Calibrazione del conduttimetro: la calibrazione viene effettuata, dopo disconnessione della cella di misura, per tutti gli intervalli di misura utilizzati impiegando

resistori di precisione certificati o dispositivi equivalenti aventi una incertezza del valore certificato dello 0,1 per cento o meno.

Se la cella di conduttività “in-linea” non può essere smontata, la calibrazione del sistema viene effettuata in rapporto ad uno strumento di misura di conduttività calibrato la cui cella di conduttività viene posta, nel flusso d'acqua, vicino alla cella che deve essere calibrata.

Misura della temperatura: tolleranza ± 2 °C.

PROCEDIMENTO

Fase 1

1. Misurare la conduttività senza compensazione della temperatura, registrando la temperatura simultaneamente.

Si possono effettuare determinazioni con compensazione della temperatura se adeguatamente convalidate.

2. Individuare sulla Tabella 1927.-2 la temperatura che più si avvicina per difetto o uguaglia la temperatura misurata. Il valore di conduttività corrispondente è il limite a quella temperatura.

3. Se la conduttività misurata non supera il valore riportato in Tabella 1927.-2, l'acqua in esame soddisfa ai requisiti del saggio per la conduttività. Se la conduttività è più alta del valore in Tabella 1927.-2, proseguire con la fase 2.

Tabella 1927.-2. - Fase 1 - *Temperatura e requisiti di conduttività (per determinazioni della conduttività senza termo-compensazione)*

Temperatura (°C)	Conduttività ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
0	0,6
5	0,8
10	0,9
15	1,0
20	1,1
25	1,3
30	1,4
35	1,5
40	1,7
45	1,8
50	1,9
55	2,1
60	2,2
65	2,4
70	2,5
75	2,7
80	2,7
85	2,7
90	2,7
95	2,9
100	3,1

Fase 2

4. Trasferire una sufficiente quantità (100 ml o più) di acqua in esame in un adatto recipiente e agitare. Aggiustare, se necessario, la temperatura e, mantenendola a 25 ± 1 °C, agitare vigorosamente il campione osservandone periodicamente la conduttività. Quando la variazione della conduttività (dovuta all'assorbimento di CO_2 dall'aria) è inferiore a $0,1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ per 5 min, annotarne il valore.

5. Se la conduttività non è superiore a $2,1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, l'acqua in esame soddisfa ai requisiti del saggio per la conduttività. Se la conduttività è superiore a $2,1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, proseguire con la fase 3.

Fase 3

6. Effettuare questa prova entro 5 min circa dalla determinazione della conduttività fatta al punto 5 della fase 2, mantenendo la temperatura del campione a 25 ± 1 °C. Aggiungere una soluzione satura di *potassio cloruro R*, preparata di recente, al campione (0,3 ml per 100 ml di campione) e determinare il pH (2.2.3) al più vicino decimo di pH.

7. Utilizzando la Tabella 1927.-3, determinare il limite di conduttività al valore di pH misurato al punto 6. Se la conduttività misurata al punto 4 della fase 2 non è superiore ai requisiti previsti per quel valore di pH, l'acqua in esame è conforme alla specifica per la conduttività. Se il valore della conduttività è superiore o il pH è fuori dall'intervallo 5,0 - 7,0 l'acqua in esame non soddisfa ai requisiti del saggio per la conduttività.

Tabella 1927.-3. - Fase 3 - *pH e requisiti di conduttività (per campioni equilibrati con l'atmosfera e la temperatura)*

pH	Conduttività ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
5,0	4,7
5,1	4,1
5,2	3,6
5,3	3,3
5,4	3,0
5,5	2,8
5,6	2,6
5,7	2,5
5,8	2,4
5,9	2,4
6,0	2,4
6,1	2,4
6,2	2,5
6,3	2,4
6,4	2,3
6,5	2,2
6,6	2,1
6,7	2,6
6,8	3,1
6,9	3,8
7,0	4,6

CARATTERI

Aspetto: liquido limpido e incolore.

SAGGI

Nitrati. Non più di 0,2 ppm.

Introdurre 5 ml in una provetta immersa in acqua ghiacciata, aggiungere 0,4 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio cloruro R*, 0,1 ml di *difenilammina soluzione Re*, goccia a goccia sotto agitazione, 5 ml di *acido solforico esente da azoto R*. Trasferire la provetta in un b.m. a 50 °C. Dopo 15 min, l'eventuale colorazione blu della soluzione non deve essere più intensa di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo utilizzando una miscela di 4,5 ml di *acqua esente da nitrato R* e 0,5 ml di *soluzione standard di nitrato (NO₃ 2 ppm) R*.

Alluminio (2.4.17). Non più di 10 ppb, se destinata alla produzione di soluzioni per dialisi.

Soluzione in esame. A 400 ml aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua distillata R*.

Soluzione di riferimento. Mescolare 2 ml di *soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm) R*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 98 ml di *acqua distillata R*.

Prova in bianco. Mescolare 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua distillata R*.

Endotossine batteriche (2.6.14). Inferiori a 0,25 U.I./ml.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso, che la sostanza è idonea per la preparazione di soluzioni per dialisi.

0008

ACQUA DEPURATA

Aqua purificata

H₂OM_r 18,02

DEFINIZIONE

L'acqua depurata è acqua per la preparazione di medicinali diversi da quelli che devono essere sterili ed apirogeni, salvo eccezione giustificata ed autorizzata.

Acqua depurata in grande volume

PRODUZIONE

L'acqua depurata in grande volume si prepara mediante distillazione, scambio ionico, osmosi inversa o qualsiasi altro metodo adeguato, a partire da acqua conforme alla normativa prevista, dall'autorità competente, per l'acqua destinata al consumo umano.

L'acqua depurata in grande volume è conservata e distribuita in condizioni designate a prevenire la crescita di microrganismi e ad evitare ogni altra contaminazione.

Monitoraggio microbiologico. Durante la produzione e la successiva conservazione debbono essere prese appropriate misure per garantire che la conta microbiologica sia adeguatamente controllata e monitorata. Appropriati livelli di allerta e di intervento vengono stabiliti per individuare evoluzioni indesiderabili. In condizioni normali un appropriato livello di intervento è quello di una conta microbiologica di 100 UFC/ml, determinata mediante filtrazione su una membrana la cui dimensione nominale dei pori non è più grande di 0,45 µm, utilizzando agar R2A e incubando a 30-35 °C per non meno di 5 giorni. Il volume del campione deve essere scelto in relazione al risultato previsto.

Agar R2A

Estratto di lievito	0,5 g
Peptone proteoso	0,5 g
Idrolizzato di caseina	0,5 g
Glucosio	0,5 g
Amido	0,5 g
Potassio fosfato dibasico	0,3 g
Magnesio solfato amido	0,024 g
Sodio piruvato	0,3 g
Gelosio	15,0 g
Acqua depurata q.b.a.	1000 ml

Aggiustare il pH in modo tale che, dopo la sterilizzazione, esso sia $7,2 \pm 0,2$. Sterilizzare riscaldando in autoclave a 121 °C per 15 min.

Fertilità dell'agar R2A

– *Preparazione dei ceppi di riferimento.* Utilizzare delle sospensioni standardizzate stabili di ceppi di riferimento o preparare delle sospensioni come indicato in Tabella 0008.-1.

Le culture vengono effettuate secondo un sistema di lotto di semenza tale che i microrganismi vitali utilizzati per l'inoculazione non abbiano subito più di 5 passaggi a partire dal lotto di semenza primario d'origine.

Far crescere separatamente ciascuno dei ceppi batterici come indicato nella Tabella 0008.-1. Per preparare le sospensioni di riferimento usare sodio cloruro-peptone soluzione tamponata a pH 7,0 oppure tampone fosfato soluzione a pH 7,2. Utilizzare le sospensioni entro 2 h o entro 24 h se conservate a 2 – 8 °C. Come alternative alla preparazione e successiva diluizione di una sospensione fresca di cellule vegetative di *Bacillus subtilis*, si può preparare una sospensione stabile di spore e quindi se ne utilizza un volume appropriato per l'inoculazione. La sospensione di spore stabile può essere mantenuta a 2 – 8 °C per un periodo di tempo convalidato.

– *Saggio di fertilità (Promozione della crescita)*. Effettuare il saggio su ciascun lotto del terreno di coltura pronto all'uso e su ciascun lotto del terreno, preparato sia da un terreno disidratato che da ingredienti descritti. Inoculare separatamente piastre di agar R2A con un piccolo numero (non più di 100 UFC) di microrganismi indicati nella Tabella 0008.-1.

Incubare nelle condizioni specificate nella stessa tabella. La crescita ottenuta non deve differire per più di un fattore 2 del valore calcolato per un inoculo standardizzato.

Per un inoculo preparato di recente la crescita dei microrganismi deve essere comparabile a quella osservata con un lotto di un terreno precedentemente controllato e approvato.

Tabella 0008.-1.- *Saggio di fertilità dell'agar R2A*

Microrganismi	Preparazione dei ceppi di riferimento	Saggio di fertilità
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> per esempio: ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30 – 35 °C 18 – 24 h	Agar R2A ≤100 UFC 30 – 35 °C ≤3 giorni
<i>Bacillus subtilis</i> per esempio: ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30 – 35 °C 18 – 24 h	Agar R2A ≤100 UFC 30 – 35 °C ≤3 giorni

Carbonio organico totale o sostanze ossidabili.

Effettuare il saggio per il carbonio organico totale (2.2.44) con un limite di 0,5 mg/l o alternativamente il seguente saggio per le sostanze ossidabili: a 100 ml aggiungere 10 ml di *acido solforico diluito R* e 0,1 ml di *potassio permanganato 0,02 M* e bollire per 5 min. La soluzione rimane leggermente rosa.

Conduttività. Determinare la conduttività fuori-linea o in-linea nelle seguenti condizioni.

APPARECCHIATURA

Cella di conduttività:

– elettrodi di materiale adatto come ad esempio acciaio;

– costante di cella: la costante della cella è normalmente certificata dal produttore e viene successivamente verificata ad intervalli adeguati utilizzando una soluzione di riferimento certificata avente una conduttività minore di 1500 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o comparandola con un'altra cella avente una costante di cella certificata. La costante della cella è confermata se il valore trovato non differisce più del 2 per cento del valore certificato; in caso contrario la cella deve essere ricalibrata.

Conduttimetro: accuratezza di 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o migliore al limite inferiore dell'intervallo.

Taratura del sistema (cella di conduttività e conduttimetro):

- contro una o più adeguate soluzioni standard certificate;
- accuratezza: entro il 3 per cento della conduttività misurata più $0,1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Calibrazione del conduttimetro: la calibrazione viene effettuata, dopo disconnessione della cella di misura, per tutti gli intervalli di misura utilizzando impiegando resistori di precisione certificati o dispositivi equivalenti aventi una incertezza del valore certificato dello 0,1 per cento o meno.

Se la cella di conduttività “in-linea” non può essere smontata, la calibrazione del sistema viene effettuata in rapporto ad uno strumento di misura di conduttività calibrato la cui cella di conduttività viene posta, nel flusso d’acqua, vicino alla cella che deve essere calibrata.

Misura della temperatura: tolleranza $\pm 2^\circ\text{C}$.

PROCEDIMENTO

Misurare la conduttività senza compensazione della temperatura, registrando la temperatura simultaneamente.

Si possono effettuare determinazioni con compensazione della temperatura se adeguatamente convalidate.

L’acqua in esame è conforme ai requisiti se la conduttività misurata alla temperatura registrata non è superiore al valore in Tabella 0008.-2.

Tabella 0008.-2. - Requisiti di temperatura e conduttività

Temperatura (°C)	Conduttività ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
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

Per temperature non presenti in Tabella 0008.-2, calcolare la massima conduttività consentita per interpolazione tra il valore più basso e il valore più alto prossimi a quello misurato, che si trovano in tabella.

Metalli pesanti. Se l’acqua depurata in grande volume soddisfa ai requisiti per la conduttività prescritti per l’Acqua per preparazioni iniettabili (0169) in grande volume, non è necessario effettuare il saggio per i metalli pesanti come di seguito prescritto.

CARATTERI

Aspetto: liquido limpido e incolore.

SAGGI

Nitrati. Non più di 0,2 ppm.

Introdurre 5 ml in una provetta immersa in acqua ghiacciata, aggiungere 0,4 ml di una soluzione (100 g/l) di potassio cloruro R, 0,1 ml di difenilammina soluzione R e, goccia a goccia sotto agitazione, 5 ml di acido solforico esente da azoto R. Trasferire la provetta in un b.m. a 50°C . Dopo 15 min, l’eventuale colore blu della soluzione non è più intenso di quello di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo utilizzando una miscela di 4,5 ml di acqua esente da nitrato R e 0,5 ml di soluzione standard di nitrato (NO_3 2 ppm) R.

Alluminio (2.4.17). Non più di 10 ppb, se destinata alla produzione di soluzioni per dialisi.

Soluzione in esame. A 400 ml aggiungere 10 ml di tampone acetato soluzione a pH 6,0 R e 100 ml di acqua distillata R.

Soluzione di riferimento. Mescolare 2 ml di soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm) R, 10 ml di tampone acetato soluzione a pH 6,0 R e 98 ml di acqua distillata R.

Prova in bianco. Mescolare 10 ml di tampone acetato soluzione a pH 6,0 R e 100 ml di acqua distillata R.

Metalli pesanti. A 200 ml aggiungere 0,15 ml di acido nitrico 0,1 M R e scaldare in una capsula di vetro a b.m. fino a quando il volume si riduce a 20 ml. 12 ml della soluzione concentrata soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti. Preparare lo standard utilizzando 10 ml di soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R aggiungendo 0,075 ml di acido nitrico 0,1 M. Preparare la soluzione di riferimento aggiungendo 0,075 ml di acido nitrico 0,1 M.

Endotossine batteriche (2.6.14). Se destinata alla produzione di soluzioni per dialisi senza un’ulteriore appropriata procedura di rimozione delle endotossine batteriche, non più di 0,25 U.I. di endotossine per millilitro.

Acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso, che la sostanza è idonea per la preparazione di soluzione per dialisi.

Acqua depurata ripartita in contenitori

DEFINIZIONE

È acqua depurata in grande volume che è stata ripartita e conservata in condizioni tali da assicurare la qualità microbiologica richiesta. È esente da qualsiasi sostanza aggiunta.

CARATTERI

Aspetto: liquido limpido e incolore.

SAGGI

Soddisfa ai saggi descritti nella sezione Acqua depurata in grande volume e agli ulteriori saggi seguenti.

Acidità o alcalinità. A 10 ml, bolliti di recente e raffreddati in un pallone di vetro borosilicato, aggiungere 0,05 ml di *rosso metile soluzione R*. La soluzione non è colorata in rosso.

A 10 ml aggiungere 0,1 ml di *blu bromotimolo soluzione R1*. La soluzione non è colorata in blu.

Sostanze ossidabili. A 100 ml aggiungere 10 ml di *acido solforico diluito R* e 0,1 ml di *potassio permanganato 0,02 M* e bollire per 5 min. La soluzione rimane rosa pallido.

Cloruri. A 10 ml aggiungere 1 ml di *acido nitrico diluito R* e 0,2 ml di *argento nitrato soluzione R2*. L'aspetto della soluzione non deve cambiare per almeno 15 min.

Solfati. A 10 ml aggiungere 0,1 ml di *acido cloridrico diluito R* e 0,1 ml di *bario cloruro soluzione R1*. L'aspetto della soluzione non deve cambiare per almeno 1 h.

Ammonio. Non più di 0,2 ppm.

A 20 ml aggiungere 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*. Esaminare dopo 5 min la soluzione lungo l'asse verticale della provetta. La soluzione non

è più intensamente colorata di una soluzione standard preparata contemporaneamente aggiungendo 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R* a una miscela di 4 ml di *soluzione standard di ammonio (NH₄ 1 ppm) R* e 16 ml di *acqua esente da ammonio R*.

Calcio e magnesio. A 100 ml aggiungere 2 ml di *tampone ammonio cloruro a pH 10,0 R*, 50 mg di *nero mordente 11 miscela composta R* e 0,5 ml di *sodio edetato 0,01 M*. Si sviluppa una colorazione blu netta.

Residuo all'evaporazione. Non più dello 0,001 per cento. Evaporare a secco 100 ml a b.m. e seccare in stufa a 100-105 °C. Il residuo pesa non più di 1 mg.

Contaminazione microbica. TAMC: criterio di accettazione 10² UFC/ml (2.6.12). Usare idrolizzato agarizzato di soia e caseina.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso, che la sostanza è idonea per la preparazione di soluzioni per dialisi.

1167

ACQUA PER DILUIZIONE DELLE SOLUZIONI CONCENTRATE PER EMODIALISI

Aqua ad dilutionem solutionum concentratarum
ad haemodialysim

La seguente monografia viene inclusa solo per informazione.

I metodi analitici descritti ed i limiti proposti servono per convalidare il procedimento con cui si ottiene l'acqua.

DEFINIZIONE

L'acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi è ottenuta dall'acqua potabile per distillazione, per osmosi inversa, per scambio ionico o con un altro procedimento appropriato. Le condizioni di preparazione, trasferimento e conservazione sono tali da minimizzare il rischio di contaminazione microbica e chimica.

Quando non è disponibile l'acqua ottenuta con uno dei metodi sopra descritti, può essere usata l'acqua potabile per le dialisi a domicilio.

Poiché la composizione chimica dell'acqua potabile cambia considerevolmente da una località all'altra, occorre tenerne conto al fine di procedere all'aggiustamento del contenuto di ioni, in modo che la composizione finale nella soluzione diluita corrisponda all'uso previsto.

Bisogna porre attenzione anche alla possibile presenza di residui provenienti dal trattamento dell'acqua (per esempio, clorammine) e di idrocarburi alogenati volatili.

Per il controllo della qualità dell'acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi, i seguenti metodi possono essere usati per determinare la composizione chimica e/o rivelare la presenza di possibili contaminanti, insieme con i limiti suggeriti da ottenere.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore.

SAGGI

Acidità o alcalinità. Aggiungere 0,05 ml di *rosso metile soluzione R* a 10 ml dell'acqua in esame bollita di recente e raffreddata in un pallone di vetro borosilicato. La soluzione non deve virare al rosso. Aggiungere 0,1 ml di *blu bromotimolo soluzione R1* a 10 ml dell'acqua in esame. La soluzione non vira al blu.

Sostanze ossidabili. Aggiungere a 100 ml dell'acqua in esame 10 ml di *acido solforico diluito R* e 0,1 ml di *potassio permanganato 0,02 M* e bollire per 5 min. La soluzione rimane rosa pallido.

Cloro totale disponibile. Non più di 0,1 ppm.

In una provetta da 125 ml (A), porre successivamente 5 ml di *tampone soluzione a pH 6,5 R*, 5 ml di *dietilfenilendiammina solfato soluzione R* e 1 g di *potassio ioduro R*. In una seconda provetta da 125 ml (B), porre successivamente 5 ml di *tampone soluzione a pH 6,5 R* e 5 ml di *dietilfenilendiammina solfato soluzione R*. Aggiungere, il più simultaneamente possibile, 100 ml di acqua in esame alla provetta A e una soluzione di riferimento preparata nel modo seguente alla provetta B: aggiungere ad 1 ml di una soluzione (10 mg/l) di *potassio iodato R*, 1 g di *potassio ioduro R* ed 1 ml di *acido solfo-*

rico diluito R; lasciar riposare per 1 min, aggiungere 1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e diluire a 100 ml con *acqua R*. La miscela ottenuta con l'acqua in esame non deve essere più intensamente colorata di quella ottenuta con la soluzione di riferimento.

Cloruri (2.4.4). Non più di 50 ppm.

Diluire 1 ml dell'acqua in esame a 15 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per i cloruri.

Fluoruri. Non più di 0,2 ppm.

Potenziometria (*Metodo I,2.2.36*): usare come elettrodo indicatore un elettrodo fluoro-selettivo a membrana solida e come elettrodo di riferimento un elettrodo argento-argento cloruro.

Soluzione in esame. Usare l'acqua in esame.

Soluzioni di riferimento. Diluire 2,0 ml, 4,0 ml e 10,0 ml di *soluzione standard di fluoruro (F 1 ppm) R* rispettivamente a 20 ml con *tampone per l'aggiustamento della forza ionica totale R1*.

Effettuare la misura su ogni soluzione.

Nitrati. Non più di 2 ppm.

Diluire 2 ml dell'acqua in esame a 100 ml con *acqua esente da nitrato R*. Porre 5 ml di questa diluizione in una provetta immersa in acqua ghiacciata, aggiungere 0,4 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio cloruro R* e 0,1 ml di *difenilammina soluzione R* e quindi, goccia a goccia ed agitando, 5 ml di *acido solforico R*. Scaldare la provetta a b.m. a 50 °C. Lasciare a riposo per 15 min. La soluzione non deve essere più intensamente colorata in blu di una soluzione di riferimento, preparata contemporaneamente e nelle stesse condizioni usando una miscela di 0,1 ml di *soluzione standard di nitrato (NO₃ 2 ppm) R* e 4,9 ml di *acqua esente da nitrato R*.

Solfati (2.4.13). Non più di 50 ppm.

Diluire 3 ml dell'acqua in esame a 15 ml con *acqua distillata R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per i solfati.

Alluminio (2.4.17). Non più di 10 µg/l.

Preparazione in esame. A 400 ml dell'acqua in esame aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Una miscela di 2 ml di *soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm)*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 98 ml di *acqua R*.

Soluzione in bianco. Usare una miscela di 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua R*.

Ammonio. Non più di 0,2 ppm.

Aggiungere 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R* a 20 ml dell'acqua in esame, in un tubo trasparente con fondo piatto. Lasciare a riposo per 5 min. La soluzione non deve essere più intensamente colorata di una soluzione di riferimento, preparata contemporaneamente e nelle stesse condizioni usando una miscela di 4 ml di *soluzione standard di ammonio (NH₄ 1 ppm) R* e 16 ml di *acqua esente da ammonio R*. Esaminare le soluzioni lungo l'asse verticale del tubo.

Calcio. Non più di 2 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Usare l'acqua in esame.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento (da 1 ppm a 5 ppm) usando una *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm usando una lampada a catodo cavo al calcio come sorgente di radiazione ed una fiamma ossidante aria-acetilene.

Magnesio. Non più di 2 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire 10 ml dell'acqua in esame a 100 ml con *acqua distillata R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento (da 0,1 ppm a 0,5 ppm) usando una *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm usando una lampada a catodo cavo al magnesio come sorgente di radiazione ed una fiamma ossidante aria-acetilene.

Mercurio. Non più di 0,001 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Aggiungere 5 ml di *acido nitrico R* per litro di acqua in esame. In un pallone di vetro borosilicato da 50 ml con tappo a smeriglio, porre 20 ml dell'acqua in esame, aggiungere 1 ml di *acido nitrico diluito R* ed agitare. Aggiungere 0,3 ml di *acqua di bromo R1*. Tappare il pallone, agitare e scaldare il pallone tappato a 45 °C per 4 h. Lasciar raffreddare. Se la soluzione non vira al giallo aggiungere 0,3 ml di *acqua di bromo R1* e scaldare nuovamente a 45 °C per 4 h. Aggiungere 0,5 ml di una soluzione (10 g/l) di *idrossilammina cloridrato R* preparata di recente. Agitare. Lasciar riposare per 20 min.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento trattando, come descritto per l'acqua in esame, soluzioni preparate di recente (da 0,0005 ppm a 0,002

ppm di mercurio) ottenute per diluizione della *soluzione standard di mercurio (Hg 1000 ppm) R*, con una soluzione al 5 per cento *V/V* di *acido nitrico diluito R*.

Aggiungere ad un volume di soluzione adatto all'apparecchio in uso, una quantità di *stagno(-oso) cloruro soluzione R2* equivalente ad 1/5 di questo volume. Adattare immediatamente il dispositivo per ottenere il mercurio sotto forma di vapore. Aspettare 20 s e far passare, attraverso il dispositivo, una corrente di *azoto R* come gas di trasporto.

Misurare l'assorbanza a 253,7 nm usando una lampada a catodo cavo al mercurio o una lampada a scarica e, come dispositivo di atomizzazione, un sistema senza fiamma che permette di ottenere il mercurio sotto forma di vapori freddi.

Metalli pesanti (2.4.8). Non più di 0,1 ppm.

Scaldare a b.m. 200 ml dell'acqua in esame, in una capsula di vetro, fino a ridurre il volume a 20 ml. 12 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti. Preparare la soluzione di riferimento usando la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Potassio. Non più di 2 ppm, determinato mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame (a). Diluire 50,0 ml dell'acqua in esame a 100 ml con *acqua distillata R*. Effettuare una determinazione usando questa soluzione. Se il contenuto di potassio è superiore a 0,75 mg per litro, diluire ulteriormente l'acqua in esame con *acqua distillata R*.

Soluzione in esame (b). Prelevare 50,0 ml dell'acqua in esame o, se necessario, dell'acqua in esame diluita come descritto nella preparazione della soluzione in esame (a). Aggiungere 1,25 ml di *soluzione standard di potassio (K 20 ppm) R* e diluire a 100,0 ml con *acqua distillata R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento (0, 0,25, 0,50, 0,75 e 1 ppm) usando la *soluzione standard di potassio (K 20 ppm) R*.

Misurare l'intensità dell'emissione a 766,5 nm.

Calcolare il contenuto di potassio nell'acqua in esame, in parti per milione, mediante la formula seguente:

$$\frac{p \times n_1 \times 0,5}{n_2 - n_1}$$

p = fattore di diluizione usato per la preparazione della soluzione in esame (a),

n_1 = valore misurato per la soluzione in esame (a),

n_2 = valore misurato per la soluzione in esame (b).

Sodio. Non più di 50,0 ppm, determinato mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Usare l'acqua in esame. Se il contenuto di sodio è superiore a 10 mg per litro, diluire con *acqua distillata R*, fino ad ottenere una concentrazione adatta per l'apparecchio usato.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento (0, 2,5, 5,0, 7,5, e 10 ppm) usando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità dell'emissione a 589 nm.

Zinco. Non più di 0,1 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*). Usare attrezzature di campionamento e analitiche esenti da zinco o che non cedono zinco nelle condizioni di utilizzazione.

Soluzione in esame. Usare l'acqua in esame.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento (da 0,05 ppm a 0,15 ppm di zinco) usando una *soluzione standard di zinco (Zn 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 213,9 nm usando una lampada a catodo cavo allo zinco come sorgente di radiazione ed una fiamma ossidante aria-acetilene.

Contaminazione microbica. TAMC: criterio di accettazione 10^2 UFC/g (*2.6.12*).

Endotossine batteriche (*2.6.14*). Non più di 0,25 U.I./ml.

0169

ACQUA PER PREPARAZIONI INIETTABILI

Aqua ad iniectionabilia

H₂O

M_r 18,02

DEFINIZIONE

Acqua per la preparazione di medicinali per somministrazione parenterale quando come veicolo è usata acqua (acqua per preparazioni iniettabili in grande volume), e per la dissoluzione o la diluizione di sostanze o preparazioni per somministrazione parenterale (acqua sterilizzata per preparazioni iniettabili).

Acqua per preparazioni iniettabili in grande volume

PRODUZIONE

L'acqua per preparazioni iniettabili in grande volume si ottiene da acqua che soddisfa alle disposizioni sull'acqua per il consumo umano emanate dall'Autorità competente o da acqua purificata per distillazione in un apparecchio le cui parti a contatto con l'acqua sono di vetro neutro, quarzo o metallo idoneo e che è munito di un dispositivo che impedisce il trascinarsi di gocce. È essenziale una corretta manutenzione dell'apparecchio. La prima porzione del distillato, ottenuta quando l'apparecchio comincia a funzionare, deve essere scartata e il distillato è raccolto e conservato.

Per assicurare la qualità appropriata dell'acqua, sono applicate procedure convalidate e controlli di processo della conduttività elettrica e il regolare monitoraggio microbiologico.

L'acqua per preparazioni iniettabili in grande volume viene conservata e distribuita in condizioni designate a prevenire la crescita di microrganismi e ad evitare ogni altra contaminazione.

Monitoraggio microbiologico. Durante la produzione e la successiva conservazione debbono essere prese appropriate misure per garantire che la conta microbiologica sia adeguatamente controllata e monitorata. Appropriati livelli di allerta e di intervento vengono stabiliti per individuare evoluzioni indesiderabili. In condizioni normali un appropriato livello di intervento è quello di una conta microbiologica di 10 UFC per 100 ml, determinata mediante filtrazione su una membrana la cui dimensione nominale dei pori non è più grande di 0,45 µm, utilizzando agar R2A e almeno 200 ml di acqua per preparazioni iniettabili in grande volume e incubando a 30-35 °C per non meno di 5 giorni. Nei casi di preparazioni iniettabili per un trattamento asettico, può essere necessario applicare livelli di allerta più restrittivi.

Agar R2A

Estratto di lievito	0,5 g
Peptone proteoso	0,5 g
Idrolizzato di caseina	0,5 g
Glucosio	0,5 g
Amido	0,5 g
Potassio fosfato dibasico	0,3 g
Magnesio solfato amido	0,024 g
Sodio piruvato	0,3 g
Gelosio	15,0 g
Acqua depurata q.b.a.	1000 ml

Acqua per preparazioni iniettabili

Aggiustare il pH in modo tale che, dopo la sterilizzazione, esso sia $7,2 \pm 0,2$. Sterilizzare riscaldando in autoclave a 121 °C per 15 min.

Fertilità dell'agar R2A

- *Preparazione dei ceppi di riferimento.* Utilizzare delle sospensioni standardizzate stabili di ceppi di riferimento o preparare delle sospensioni come indicato in Tabella 0169.-1.

Le culture vengono effettuate secondo un sistema di lotto di semenza tale che i microrganismi vitali utilizzati per l'inoculazione non abbiano subito più di 5 passaggi a partire dal lotto di semenza primario d'origine.

Far crescere separatamente ciascuno dei ceppi batterici come indicato nella Tabella 0169.-1. Per preparare le sospensioni di riferimento usare sodio cloruro-peptone soluzione tampone a pH 7,0 oppure tampone fosfato soluzione a pH 7,2. Utilizzare le sospensioni entro 2 h o entro 24 h se conservate a 2 - 8 °C. Come alter-

native alla preparazione e successiva diluizione di una sospensione fresca di cellule vegetative di *Bacillus subtilis*, si può preparare una sospensione stabile di spore e quindi se ne utilizza un volume appropriato per l'inoculazione. La sospensione di spore stabile può essere mantenuta a 2 - 8 °C per un periodo di tempo convalidato.

- *Saggio di fertilità (Promozione della crescita).* Effettuare il saggio su ciascun lotto del terreno di coltura pronto all'uso e su ciascun lotto del terreno, preparato sia da un terreno disidratato che da ingredienti descritti. Inoculare separatamente piastre di agar R2A con un piccolo numero (non più di 100 UFC) di microrganismi indicati nella Tabella 0169.-1.

Incubare nelle condizioni specificate nella stessa tabella. La crescita ottenuta non deve differire per più di un fattore 2 del valore calcolato per un inoculo standardizzato.

Per un inoculo preparato di recente la crescita dei microrganismi deve essere comparabile a quella osservata con un lotto di un terreno precedentemente controllato e approvato.

Tabella 0169.-1.- Saggio di fertilità dell'agar R2A

Microrganismi	Preparazione dei ceppi di riferimento	Saggio di fertilità
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> per esempio: ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30 - 35 °C 18 - 24 h	Agar R2A ≤100 UFC 30 - 35 °C ≤3 giorni
<i>Bacillus subtilis</i> per esempio: ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Idrolizzato agarizzato di soia e caseina o terreno liquido di idrolizzato di soia e caseina 30 - 35 °C 18 - 24 h	Agar R2A ≤100 UFC 30 - 35 °C ≤3 giorni

Carbonio organico totale (2.2.44): massimo 0,5 mg/l.

Conduttività. Determinare la conduttività fuori-linea o in-linea nelle seguenti condizioni.

APPARECCHIATURA

Cella di conduttività:

- elettrodi di materiale adatto come ad esempio acciaio;
- costante di cella: la costante della cella è normalmente certificata dal produttore e viene successivamente verificata ad intervalli adeguati utilizzando una soluzione di riferimento certificata avente una conduttività minore di 1500 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o comparandola con un'altra cella avente una costante di cella certificata. La costante della cella è confermata se il valore trovato non differisce più del 2 per cento del valore certificato; in caso contrario la cella deve essere ricalibrata.

Conduttimetro: accuratezza di 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o migliore al limite inferiore dell'intervallo.

Taratura del sistema (cella di conduttività e conduttimetro):

- contro una o più adeguate soluzioni standard certificate;
- accuratezza: entro il 3 per cento della conduttività misurata più 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Calibrazione del conduttimetro: la calibrazione viene effettuata, dopo disconnessione della cella di misura, per tutti gli intervalli di misura utilizzati impiegando resistori di precisione certificati o dispositivi equivalenti aventi una incertezza del valore certificato dello 0,1 per cento o meno.

Se la cella di conduttività "in-linea" non può essere smontata, la calibrazione del sistema viene effettuata in rapporto ad uno strumento di misura di conduttività calibrato la cui cella di conduttività viene posta, nel flusso d'acqua, vicino alla cella che deve essere calibrata.

Misura della temperatura: tolleranza ± 2 °C.

PROCEDIMENTO

Fase 1

1. Misurare la conduttività senza compensazione della temperatura, registrando la temperatura simultaneamente.

Si possono effettuare determinazioni con compensazione della temperatura se adeguatamente convalidate.

2. Individuare sulla Tabella 0169.-2 la temperatura che più si avvicina per difetto o uguaglia la temperatura misurata. Il valore di conduttività corrispondente è il limite a quella temperatura.

3. Se la conduttività misurata non supera il valore riportato in Tabella 0169.-2, l'acqua in esame soddisfa ai requisiti per la conduttività. Se la conduttività è più alta del valore in Tabella 0169.-2, proseguire con la fase 2.

Tabella 0169.-2. - Fase 1 - *Temperatura e requisiti di conduttività (per misure di conduttività senza termocompensazione)*

Temperatura (°C)	Conduttività ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
0	0,6
5	0,8
10	0,9
15	1,0
20	1,1
25	1,3
30	1,4
35	1,5
40	1,7
45	1,8
50	1,9
55	2,1
60	2,2
65	2,4
70	2,5
75	2,7
80	2,7
85	2,7
90	2,7
95	2,9
100	3,1

Fase 2

4. Trasferire una sufficiente quantità (100 ml o più) di acqua in esame in un adatto recipiente e mescolare. Aggiustare, se necessario, la temperatura e, mantenendola a 25 ± 1 °C, agitare vigorosamente il campione osservandone periodicamente la conduttività. Quando si può considerare stabilizzata, presentando variazioni (dovute all'assorbimento di CO₂ dall'aria) inferiori a 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ per 5 min, annotarne la conduttività.

5. Se la conduttività non è superiore a 2,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, l'acqua in esame soddisfa ai requisiti del saggio per la conduttività. Se la conduttività è superiore a 2,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, proseguire con la fase 3.

Materie Prime

Fase 3

6. Effettuare questa prova entro 5 min circa dalla determinazione della conduttività fatta al punto 5 della fase 2, mantenendo la temperatura del campione a 25 ± 1 °C. Aggiungere una soluzione satura di *potassio cloruro R*, preparata di recente, al campione (0,3 ml per 100 ml di campione) e determinare il pH (2.2.3) al più vicino decimo di unità.

7. In base alla Tabella 0169.-3, determinare il limite di conduttività al valore di pH misurato al punto 6. Se la conduttività misurata al punto 4 della fase 2 non è superiore ai requisiti previsti per quel valore di pH, l'acqua in esame è conforme alla specifica per la conduttività. Se il valore della conduttività è superiore o il pH è fuori dall'intervallo 5,0 - 7,0 l'acqua non soddisfa ai requisiti per la conduttività.

Tabella 0169.-3. - Fase 3 - *pH e requisiti di conduttività (per campioni equilibrati con l'atmosfera e la temperatura)*

pH	Conduttività ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
5,0	4,7
5,1	4,1
5,2	3,6
5,3	3,3
5,4	3,0
5,5	2,8
5,6	2,6
5,7	2,5
5,8	2,4
5,9	2,4
6,0	2,4
6,1	2,4
6,2	2,5
6,3	2,4
6,4	2,3
6,5	2,2
6,6	2,1
6,7	2,6
6,8	3,1
6,9	3,8
7,0	4,6

CARATTERI

Aspetto: liquido limpido e incolore.

SAGGI

Alluminio (2.4.17). Non più di 10 ppb, se destinata alla produzione di soluzioni per dialisi.

Soluzione in esame. A 400 ml aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua distillata R*.

Soluzione di riferimento. Mescolare 2 ml di *soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm) R*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 98 ml di *acqua distillata R*.

Prova in bianco. Mescolare 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua distillata R*.

Nitrati. Non più di 0,2 ppm.

Introdurre 5 ml in una provetta immersa in acqua ghiacciata, aggiungere 0,4 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio cloruro R*, 0,1 ml di *difenilammina soluzione R* e, goccia a goccia sotto agitazione, 5 ml di *acido solforico esente da azoto R*.

Trasferire la provetta in un b.m. a 50 °C. Dopo 15 min, l'eventuale colorazione blu della soluzione non deve essere più intensa di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo utilizzando una miscela di 4,5 ml di *acqua esente da nitrato R* e 0,5 ml di *soluzione standard di nitrato (NO₃ 2 ppm) R*.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,25 U.I. di endotossine per millilitro.

Acqua sterilizzata per preparazioni iniettabili

DEFINIZIONE

Acqua per preparazioni iniettabili in grande volume che è stata distribuita in adatti contenitori, chiusi e sterilizzati al calore in condizioni tali da assicurare che il prodotto soddisfi ancora al saggio delle endotossine batteriche. L'acqua sterilizzata per preparazioni iniettabili è esente da ogni altra sostanza aggiunta.

Esaminata in condizioni idonee di visibilità, è limpida ed incolore.

Ogni recipiente contiene una sufficiente quantità di acqua per preparazioni iniettabili da permettere il prelievo del volume nominale.

SAGGI

Acidità o alcalinità. A 20 ml aggiungere 0,05 ml di *rosso fenolo soluzione R*. Se la soluzione è gialla, vira al rosso per aggiunta di 0,1 ml di *sodio idrossido 0,01 M*; se è rossa, vira al giallo per aggiunta di 0,15 ml di *acido cloridrico 0,01M*.

Conduttività. Per i contenitori con un volume nominale uguale o inferiore a 10 ml, la conduttività non è superiore a $25 \mu\text{S cm}^{-1}$; se il volume nominale è maggiore di 10 ml, la conduttività non è superiore a $5 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Usare la strumentazione e le procedure di taratura definite per l'acqua per preparazioni iniettabili in grande volume, mantenendo la temperatura del campione a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

Sostanze ossidabili. Per contenitori con un volume nominale minore di 50 ml: portare all'ebollizione 100 ml di acqua sterilizzata per preparazioni iniettabili con 10 ml di *acido solforico diluito R*, aggiungere 0,4 ml di *potassio permanganato 0,02 M* e far bollire per 5 min; la soluzione resta leggermente colorata di rosa.

Per contenitori con un volume nominale uguale o maggiore di 50 ml: portare all'ebollizione 100 ml di acqua sterilizzata per preparazioni iniettabili con 10 ml di *acido solforico diluito R*, aggiungere 0,2 ml di *potassio permanganato 0,02M* e far bollire per 5 minuti; la soluzione resta leggermente colorata di rosa.

Cloruri (2.4.4). Per contenitori con un volume nominale uguale o inferiore a 100 ml, 15 ml soddisfano al saggio limite per i cloruri (0,5 ppm). Preparare la soluzione di riferimento usando una miscela di 1,5 ml di *soluzione standard di cloruro (Cl 5 ppm) R* e 13,5 ml di *acqua R*. Esaminare le soluzioni lungo l'asse verticale della provetta. Per contenitori con un volume nominale maggiore di 100 ml, usare il saggio seguente: a 10 ml aggiungere 1 ml di *acido nitrico diluito R* e 0,2 ml di *argento nitrato soluzione R2*. La soluzione non cambia aspetto per almeno 15 min.

Nitrati. Non più di 0,2 ppm.

Introdurre 5 ml in una provetta immersa in acqua ghiacciata, aggiungere 0,4 ml di una soluzione

(100 g/l) di *potassio cloruro R*, 0,1 ml di *difenilammina soluzione R* e, goccia a goccia sotto agitazione, 5 ml di *acido solforico esente da azoto R*.

Trasferire la provetta in un b.m. a $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Dopo 15 min, l'eventuale colorazione blu della soluzione non deve essere più intensa di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo utilizzando una miscela di 4,5 ml di *acqua esente da nitrato R* e 0,5 ml di *soluzione standard di nitrato (NO_3 2 ppm) R*.

Solfati. A 10 ml aggiungere 0,1 ml di *acido cloridrico diluito R* e 0,1 ml di *bario cloruro soluzione R1*. L'aspetto della soluzione non deve cambiare per almeno 1 h.

Alluminio (2.4.17). Non più di 10 ppb, se destinata alla produzione di soluzioni per dialisi.

Soluzione in esame. A 400 ml aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua distillata R*.

Soluzione di riferimento. Mescolare 2 ml di *soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm) R*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 98 ml di *acqua distillata R*.

Prova in bianco. Mescolare 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 100 ml di *acqua distillata R*.

Ammonio: per contenitori con un volume nominale minore di 50 ml: massimo 0,6 ppm; per contenitori con un volume nominale uguale o maggiore di 50 ml: massimo 0,2 ppm.

Contenitori con un volume nominale minore di 50 ml: a 20 ml aggiungere 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*; dopo 5 min esaminare la soluzione secondo l'asse verticale del tubo; la soluzione non è più intensamente colorata rispetto ad uno standard preparato simultaneamente aggiungendo 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R* ad una miscela di 4 ml di *soluzione standard di ammonio (NH_4 3 ppm) R* e 16 ml di *acqua esente da ammonio R*.

Contenitori con un volume nominale uguale o maggiore di 50 ml: a 20 ml aggiungere 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*; dopo 5 min esaminare la soluzione secondo l'asse verticale del tubo; la soluzione non è più intensamente colorata rispetto ad uno standard preparato simultaneamente aggiungendo 1 ml di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R* ad una miscela di 4 ml di *soluzione standard di ammonio (NH_4 1 ppm) R* e 16 ml di *acqua esente da ammonio R*.

Aminofenazone

Calcio e magnesio. A 100 ml aggiungere 2 ml di *tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0 R*, 50 mg di *nero mordente 11 miscela composta R* e 0,5 ml di *sodio edetato 0,01 M*. Si sviluppa una colorazione blu netta.

Residuo all'evaporazione. Per contenitori con un volume nominale maggiore di 10 ml, il residuo pesa non più di 3 mg (0,003 per cento). Per contenitori con un volume nominale di 10 ml o meno, il residuo pesa non più di 4 mg (0,004 per cento).

Evaporare a secco 100 ml su b.m. e seccare in stufa a 100-105 °C.

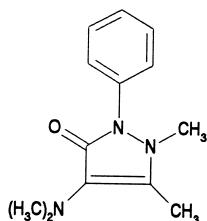
Contaminazione particellare: particelle non visibili (2.9.19). Soddisfa al saggio A o al saggio B, come appropriato.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa al saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,25 U.I./ml.

AMINOFENAZONE

Aminophenazonum



$C_{13}H_{17}N_3O$

M_r 231,3

DEFINIZIONE

L'aminofenazone contiene non meno del 99,0 per cento di 4-dimetilammino-1,5-dimetil-2-fenil-pirazolin-3-one, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, solubile in acqua e in etere, molto solubile in alcool e in cloroformio.

IDENTIFICAZIONE

A. Punto di fusione (2.2.14): da 107 °C a 109 °C.

B. Disciogliere 50 mg in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,5 ml di *acido solforico diluito R* e 0,1 ml di *sodio nitrito soluzione R*. Si sviluppa una colorazione blu-violetta instabile.

C. A 1 ml della soluzione S (vedi Saggi) aggiungere 5 ml di *argento nitrato 0,1 M*. La soluzione è violetta e, dopo alcuni minuti, si ottiene un precipitato grigiastro.

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 2,5 g in *acqua R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II, 2.2.2*).

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 7,5 e 9,0.

Sostanze facilmente carbonizzabili. Disciogliere 0,5 g in 5 ml di *acido solforico R*. La soluzione non è più intensamente colorata della soluzione di riferimento GB₆ (*Metodo II, 2.2.2*).

Fenazone. Scaldare a b.m., evaporando fino a secco, circa 20 mg della sostanza in esame con 0,15 ml di *dime-tilamminobenzaldeide soluzione R2*. Non si sviluppa una colorazione rossa prima di 10 min.

Solfati (2.4.13). 15 ml della soluzione S soddisfano al saggio limite per i solfati (200 ppm).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore all'1,0 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento nel vuoto a 80 °C per 4 h.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 2,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,200 g in 25 ml di *acido acetico anidro R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, usando come indicatore 0,5 ml di *cristal violetto soluzione R*.

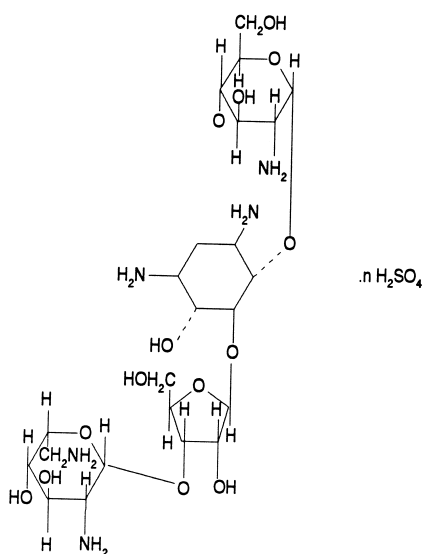
1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 23,13 mg di $C_{13}H_{17}N_3O$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

AMINOSIDINA SOLFATO

Aminosidinum sulfuricum

 $C_{23}H_{45}N_5O_{14} \cdot nH_2SO_4$ M_r della base 615,6

DEFINIZIONE

L'aminosidina solfato è una miscela di solfati di una base organica ad azione antibatterica prodotta per fermentazione dello *Streptomyces chrestomycetus*. Il sale di normale produzione corrisponde alla formula con 2-2,5 molecole di acido solforico (H_2SO_4) (M_r 848-897). L'aminosidina solfato contiene non meno del 66,0 per cento di aminosidina pari a 660 U.I. per milligrammo, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina fine e scorrevole, bianca o giallastra, igroscopica, stabile a temperatura ordinaria, molto solubile in acqua, solubile negli acidi minerali diluiti e in ammoniaca diluita, insolubile nella maggior parte dei solventi organici.

IDENTIFICAZIONE

Prima identificazione: A

Seconda identificazione: B, C, D.

A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con aminosidina solfato SCR.

B. Diluire 1 ml di una soluzione acquosa (1 g/l) con 9 ml di *acido solforico R* (40 ml/l) e riscaldare a b.m. bollente per 1 h. Dopo raffreddamento, la soluzione mostra un massimo di assorbimento a 280 nm.

C. A 1 ml di una soluzione acquosa (0,5 g/l) aggiungere 1 ml di una soluzione (50 g/l) di *sodio nitrito R* e 1 ml di una soluzione (330 ml/l) di *acido acetico R*; agitare e lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere 1 ml di una soluzione (125 g/l) di *ammonio solfamato R*; agitare per 30 min e aggiungere ancora 4 ml di *acido cloridrico 6 M* e 0,2 ml di una soluzione (10 g/l) di *indolo R* in *alcool R*. Scaldare per 3 min a b.m. bollente e, dopo raffreddamento, aggiungere 4 ml di una miscela di volumi uguali di *alcool R* e *butanolo R* ed agitare. Si sviluppa una colorazione giallo-arancione.

D. La soluzione acquosa dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 5,0 g in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1).

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 5,0 e 7,0.

Potere rotatorio specifico (2.2.7). Da $+50^\circ$ a $+57^\circ$, determinato utilizzando la soluzione ottenuta mescolando 20 ml di soluzione S con 80 ml di *acqua R* e calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 1,0 g della sostanza in esame in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 50 mg di *aminosidina solfato SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 3 ml della soluzione di riferimento (a) a 10 ml con *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 18 cm usando una miscela di 25 volumi di *cloroformio R*, 100 volumi di *ammoniaca R* e 150 volumi di *metanolo R*. Asciugare la lastra all'aria fino a scomparsa dell'odore dei solventi e quindi essiccare in stufa a $110^\circ C$ per 5 min. Raffreddare la lastra, spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *ninidrina R* in *alcool R*

Antazolina solfato

contenente 2-3 gocce di *piridina R* e seccare a 110 °C per 5 min. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) e non più di una di queste macchie è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 5,0 per cento determinata su 1,000 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C per 15 h.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori al 2,0 per cento nel prodotto per uso orale e all'1,0 per cento nel prodotto per uso parenterale.

Sterilità (2.6.1). Se destinata alla preparazione di forme farmaceutiche per uso parenterale senza un ulteriore appropriato procedimento di sterilizzazione, soddisfa al saggio di sterilità.

Pirogeni (2.6.8). Se destinata alla preparazione di forme farmaceutiche per uso parenterale senza un'ulteriore appropriata procedura di rimozione dei pirogeni, soddisfa al saggio dei pirogeni. Iniettare per ogni chilogrammo di massa del coniglio una dose corrispondente a 10 mg di base, disciolti in 1 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Il limite fiduciale superiore dell'attività misurata, calcolata con riferimento alla sostanza essiccata, non è inferiore a 660 U.I. per milligrammo.

CONSERVAZIONE

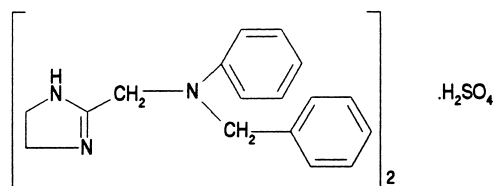
Conservare in un recipiente ben chiuso. Se la sostanza è destinata all'uso parenterale conservare in un recipiente sterile, ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile.

ETICHETTE

L'etichetta indica se la sostanza è destinata o meno all'uso parenterale.

ANTAZOLINA SOLFATO

Antazolini sulfas



$(C_{17}H_{19}N_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$

M_r 664,8

DEFINIZIONE

L'antazolina solfato contiene non meno del 98,5 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di 4,5-diidro-2-(*N*-benzil-*N*-fenilamminometil)imidazolo solfato, calcolato con riferimento alla sostanza anidra.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, solubile in acqua e in alcool, poco solubile in cloroformio, insolubile in etere.

IDENTIFICAZIONE

- Punto di fusione (2.2.14): da 132 °C a 136 °C.
- Disciogliere la sostanza in esame in *acido solforico diluito R*. La soluzione così ottenuta esaminata mediante spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto e nel visibile (2.2.25) mostra due massimi di assorbimento a circa 241 nm e a circa 291 nm.
- Disciogliere 0,1 g in 10 ml di *acqua R* ed aggiungere alcune gocce di *acido nitrico R*. Si sviluppa una colorazione rossa che vira rapidamente al verde.
- Disciogliere 0,05 g in 5 ml di *acqua R* ed aggiungere 6 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Si forma un precipitato che dopo essiccamento a 80 °C per 1 h, fonde tra 118 °C e 122 °C.
- Dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH di una soluzione (10 g/l) in *acqua R* è compreso tra 4,0 e 5,5.

Acqua (2.5.12). Non più del 6,0 per cento, determinata su 1,000 g mediante il metodo semimicro.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,5 g in 50 ml di *acido acetico anidro R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 62,88 mg di $(C_{17}H_{19}N_3)_2 \cdot H_2SO_4$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ARANCIA AMARA ESSENZA

Aurantii amari epicarpi aetheroleum

DEFINIZIONE

L'essenza di arancia amara si ottiene a freddo, con procedimenti meccanici appropriati, dall'epicarpo del frutto fresco di *Citrus aurantium L.* (*Citrus aurantium L.* subsp. *amara* Engler).

CARATTERI

Liquido mobile, limpido, di colore da giallo a giallo-bruno, con odore caratteristico del frutto fresco.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g della sostanza in esame in 1 ml di *alcool R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 µl di *N*-metil antranilato di metile, 10 µl di *linalolo R*, 20 µl di *linalile acetato R* e 2 mg di *bergaptene R* in *alcool R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande da 20 mm per 3 mm, 10 µl della soluzione di riferimento e 20 µl della soluzione in esame. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 85 volumi di *toluene R* e 15 volumi di *etile acetato R*. Lasciare seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, nella zona mediana, una banda a fluorescenza blu-violetta (*N*-metil antranilato di metile) e, al di sotto, una banda a fluorescenza giallo-verde (*bergaptene*). Il cromatogramma ottenuto

con la soluzione in esame presenta la banda corrispondente all'*N*-metil antranilato di metile, di assai lieve intensità e quella corrispondente al *bergaptene*; altre bande possono apparire, tra cui, nel terzo inferiore, una banda a fluorescenza celeste-violacea (*umbelliferone*). Spruzzare la lastra con *aldeide anisica soluzione R*, scaldare per 10 min a 100-105 °C ed esaminare la lastra ancora calda alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, nella zona mediana, la banda dell'*N*-metil antranilato di metile a fluorescenza verde-giallastra e due bande a fluorescenza arancio-bruno: una corrispondente al *linalolo*, al di sotto di quella dell'*N*-metil antranilato di metile, e l'altra poco al di sopra corrispondente all'acetato di *linalile*; proprio al di sotto della banda del *linalolo* appare la banda del *bergaptene* a fluorescenza verde-azzurra. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta le bande corrispondenti, rispettivamente, a quelle dell'acetato di *linalile*, dell'*N*-metil antranilato di metile, del *linalolo* e del *bergaptene* (*tenue*) della soluzione di riferimento. Altre bande possono apparire, tra cui, nel terzo inferiore del cromatogramma, una a fluorescenza celeste dovuta all'*umbelliferone*.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio Profilo cromatografico. I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili per tempo di ritenzione ai picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Da 0,848 a 0,860.

Indice di rifrazione (2.2.6). Da 1,473 a 1,476.

Rotazione ottica (2.2.7). Da +88° a +98°.

Profilo cromatografico. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 µl di *a-pinene R*, 10 µl di *sabinene R*, 10 µl di *β-pinene R*, 20 µl di *β-mircene R*, 800 µl di *limonene R*, 10 µl di *linalolo R*, 10 µl di *α-terpineolo R*, 10 µl di *decanale R*, 10 µl di *linalile acetato R*, 10 µl di *geranile acetato R*, 10 µl di *β-cariofillene R*, 10 µl di *esano R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga da 25 m a 50 m e con diametro interno di circa 0,30 mm, rivestita internamente con uno strato di *poli[metil(95)fenil(5)] silossano R* come fase stazionaria,

Arancia amara essenza

- elio per cromatografia *R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- un rapporto di frazionamento 1:100.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 8 min; quindi innalzarla, ad una velocità di 3 °C per minuto a 180 °C e mantenerla a 180 °C per 5 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 270 °C. Iniettare circa 0,1-0,3 µl della soluzione di riferimento. Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Notare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se: il numero di piatti teorici è almeno 30000. Iniettare circa 0,1 µl della soluzione in esame. Usando i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento, individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame. Non considerare il picco corrispondente al solvente. Calcolare il contenuto percentuale dei componenti mediante il procedimento di normalizzazione, assumendo come unitario il fattore di risposta. Le percentuali dei componenti più caratteristici per l'essenza di arancia amara tipo Italia, cui si riferisce il cromatogramma riportato in figura, sono situate entro i seguenti intervalli:

<i>α</i> -Pinene	da 0,5 a 0,6 per cento
Sabinene	da 0,2 a 0,5 per cento
<i>β</i> -Pinene	da 0,3 a 1,0 per cento
<i>β</i> -Mircene	da 1,5 a 2,0 per cento
Limonene	da 92,0 a 96,0 per cento
Linalolo	da 0,1 a 0,6 per cento
<i>α</i> -Terpineolo	meno dello 0,06 per cento
Decanale	da 0,1 a 0,2 per cento
Linalile acetato	da 0,6 a 1,6 per cento
Geranile acetato	meno dello 0,1 per cento
<i>β</i> -Cariofillene	meno dello 0,06 per cento

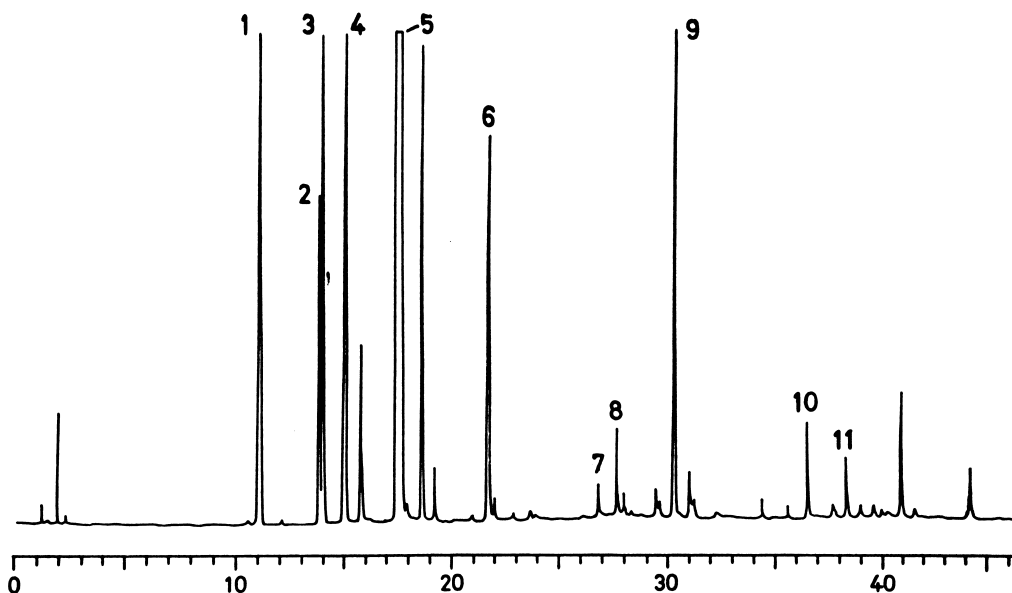
CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben riempito, ermeticamente chiuso, protetto dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica se l'essenza di arancia amara è di tipo Italia.

Il cromatogramma tipo è dato per informazione e guida nell'applicazione del metodo analitico. Esso non è parte dei requisiti della monografia.



Cromatogramma tipo dell'essenza di arancia amara

- | | | |
|----------------------|-------------------------|----------------------------|
| 1. <i>α</i> -Pinene | 5. Limonene | 9. Linalile acetato |
| 2. Sabinene | 6. Linalolo | 10. Geranile acetato |
| 3. <i>β</i> -Pinene | 7. <i>α</i> -Terpineolo | 11. <i>β</i> -Cariofillene |
| 4. <i>β</i> -Mircene | 8. Decanale | |

ARGENTO PROTEINATO

Argentum proteicum

DEFINIZIONE

L'argento proteinato è una preparazione argento-proteica che contiene non meno del 7,5 per cento e non più dell'8,5 per cento di argento (Ag; A_r 107,86).

CARATTERI

Polvere di colore marrone, leggermente igroscopica, sensibile alla luce, con acqua forma una dispersione colloidale dando una colorazione marrone cupo, poco solubile in alcool, praticamente insolubile in cloroformio e in etere.

IDENTIFICAZIONE

- A. Calcinare cautamente 1 g della sostanza in esame. Disciogliere il residuo ottenuto in una miscela di 1 ml di *acido nitrico R* e 10 ml di *acqua R*. Filtrare ed aggiungere al filtrato 5 ml di *acido cloridrico diluito R*. Si ottiene un precipitato bianco caseoso solubile in *ammoniaca R*.
- B. A 10 ml di una soluzione acquosa 10 g/l, aggiungere 5 ml di *mercurio(-ico) cloruro soluzione R*. Si ottiene un precipitato bianco, mentre il liquido diventa quasi incolore.
- C. A 10 ml di una soluzione acquosa 10 g/l, aggiungere 2 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*. La soluzione si decolora quasi completamente. Lasciare a riposo per qualche minuto. La soluzione diventa opalescente.
- D. A 10 ml di una soluzione acquosa 10 g/l, aggiungere 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*, 5 ml di *acqua R* e 2 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R*. Lasciare a riposo per qualche minuto. Si sviluppa una colorazione violetta.

SAGGI**Proteine estranee.**

- Una soluzione acquosa 100 g/l non presenta alcun deposito prima di 10 min.
- Una soluzione acquosa 20 g/l dopo aggiunta di un volume uguale di una soluzione acquosa satura di *sodio cloruro R* non si intorbida.

Argento ione. Agitare 1 g della sostanza in esame con 10 ml di *alcool R*, filtrare ed aggiungere al filtrato 2 ml di *acido cloridrico diluito R*. Non si produce alcuna opalescenza.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Calcinare 2,000 g fino a distruzione di tutta la sostanza organica. Disciogliere il residuo in 10 ml di *acido nitrico R*, scaldare fino ad eliminazione dei vapori nitrosi, diluire a 100 ml con *acqua R*. Aggiungere 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2*. Titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* fino alla comparsa di un colore giallo-rossastro.

1 ml di *ammonio tiocianato 0,1 M* equivale a 10,79 mg di Ag.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ATTAPULGITE ATTIVATA

Actapulgitum activatum

DEFINIZIONE

L'attapulgate attivata è un silicato idrato di magnesio ed alluminio attivato per riscaldamento allo scopo di aumentarne il potere adsorbente. Se l'attivazione è effettuata a temperatura elevata, si ottiene l'attapulgate normale. Se invece è effettuata a temperatura più bassa, si ottiene l'attapulgate colloidale.

CARATTERI

Polvere finissima, da marrone chiaro a grigio-marrone, praticamente insolubile in acqua e nelle soluzioni alcaline, parzialmente solubile negli acidi.

IDENTIFICAZIONE

Miscelare 0,5 g della sostanza in esame con 0,2 g di *sodio carbonato R* e 2 g di *potassio carbonato R*. Riscaldare al rosso per 1 h, raffreddare e riprendere il residuo con *acido cloridrico diluito R*. La soluzione ottenuta:

- A. Dà la reazione caratteristica dell'alluminio (2.3.1).
- B. Dà le reazioni caratteristiche del ferro (2.3.1).
- C. Dà la reazione caratteristica dei silicati (2.3.1).

SAGGI

Grandezza delle particelle. La grandezza media delle particelle è di circa 3 μm per il tipo normale e di 0,15 μm per il tipo colloidale.

pH (2.2.3). Scaldare all'ebollizione, per 1 min, 10 g della sostanza in esame con 40 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Lasciar raffreddare a temperatura ambiente in una beuta chiusa, agitare e determinare il pH. Il pH della sospensione è compreso tra 7,5 e 8,7.

Arsenico (2.4.2). A 0,25 g, in un pallone a collo lungo, aggiungere 1 ml di *acido nitrico R* e 30 ml di *acqua R*. Scaldare a b.m. per 2 h, agitando di tanto in tanto. Raffreddare, filtrare e lavare il residuo con tre porzioni successive, da 5 ml ciascuna, di *acqua R*. Riunire il filtrato e le acque di lavaggio, aggiungere 1 ml di *acido solforico R* ed evaporare a secco a b.m., scaldando fino a sviluppo di fumi bianchi. Riprendere il residuo con 10 ml di *acido solforico diluito R* e 10 ml di *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite A per l'arsenico (5 ppm).

Solfati (2.4.13). Introdurre 2 g in un pallone munito di refrigerante a ricadere, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 80 ml di *acido nitrico diluito R*. Scaldare all'ebollizione per 5 min, raffreddare, filtrare e diluire a 200 ml. 15 ml del filtrato soddisfano al saggio limite per i solfati (500 ppm).

Cloruri (2.4.4). Introdurre 2 g in un pallone munito di refrigerante a ricadere, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 80 ml di *acido nitrico diluito R*. Scaldare all'ebollizione per 5 min, raffreddare, filtrare e diluire a 200 ml. 15 ml del filtrato soddisfano al saggio limite per i cloruri (300 ppm).

Metalli pesanti (2.4.8). A 1,25 g aggiungere 20 ml di una miscela di volumi uguali di *acqua R* e di *acido nitrico diluito R*. Agitare e scaldare a b.m. per 1 h. Raffreddare, centrifugare, decantare il soprannatante ed evaporare a secco. Riprendere il residuo con 1 ml di *acido solforico R*, evaporare a secco e calcinare. Riprendere il residuo con 2 ml di *acido cloridrico R* ed evaporare a secco. Riprendere il residuo con 25 ml di *acido acetico diluito R*. 12 ml della soluzione ottenuta soddisfano al saggio limite C per i metalli pesanti (20 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Potere adsorbente. In una beuta con tappo a smeriglio, sospendere 1 g della sostanza in esame in 50 ml di una soluzione (1,2 g/l) di *blu metilene R* in *acqua R*. Agitare per 5 min, lasciar decantare e centrifugare, se necessario. Il soprannatante limpido non è più intensamente colorato di una soluzione (12 mg/l) di *blu metilene R* in *acqua R*.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso.

BELLADONNA ESTRATTO FLUIDO TITOLATO

Belladonnae foliae extractum fluidum normatum

DEFINIZIONE

L'estratto fluido di belladonna si ottiene dalla *Belladonna foglia (0221)*. Contiene non meno dello 0,28 per cento e non più dello 0,32 per cento di alcaloidi totali, calcolati come iosciamina ($C_{17}H_{23}NO_3$; M_r 289,4).

PREPARAZIONE

L'estratto si prepara dalla droga in frammenti per trattamento con *alcool al 70 per cento V/V R*, impiegando un metodo appropriato secondo le prescrizioni della monografia *Estratti (0765)* (Estratti fluidi).

CARATTERI

Liquido di colore verde scuro, di odore viroso, di sapore acre ed amaro.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando un adatto gel di silice come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire 1,0 ml dell'estratto fluido in esame con 1,0 ml di *alcool R* e filtrare. *Soluzione di riferimento*. Disciogliere 1,0 mg di *acido clorogenico R* e 2,5 mg di *rutina R* in 10 ml di *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande, 20 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acido formico anidro R*, 10 volumi di *acqua R*, 30 volumi di *metiletilchetone R* e 50 volumi di *etile acetato R*. Essiccare la lastra a 100-105 °C e spruzzare la lastra calda con una soluzione (10 g/l) di *amminoetile difenilborato R* in *metanolo R*. Successivamente spruzzare la lastra con una soluzione (50 g/l) di *macrogol 400 R* in *metanolo R*. Lasciar essiccare la lastra all'aria per 30 min ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. I cromatogrammi ottenuti con la soluzione di riferimento e con la soluzione in esame presentano nella parte centrale una banda con fluorescenza blu (acido clorogenico) e nella parte inferiore una banda con fluorescenza bruno-giallastra (rutina). Inoltre, il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta appena al di sopra della linea di partenza una banda con fluorescenza bruno-giallastra e, sopra questa, una

banda con fluorescenza gialla; inoltre presenta una banda fluorescente gialla o gialla-brunastra tra la banda dovuta alla rutina e quella dovuta all'acido clorogenico. Possono essere presenti altre bande.

- B. Esaminare il cromatogramma ottenuto al saggio Cromatografia. Le bande principali dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame sono simili, per posizione, colore e dimensione, alle bande principali dei cromatogrammi ottenuti con gli stessi volumi della soluzione di riferimento.

SAGGI

Contenuto di etanolo e tabelle alcoolimetriche (2.9.10). Tra il 57 per cento *V/V* e il 63 per cento *V/V*.

Cromatografia. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire 1,5 ml di estratto fluido con 10 ml di *acqua R*. Aggiungere 1 ml di *ammoniaca concentrata R* ed agitare con 2 porzioni successive ciascuna di 10 ml di *etere esente da perossidi R*. Separare gli strati per centrifugazione se necessario. Riunire gli strati eteri, disidratarli su *sodio solfato anidro R*, filtrare ed evaporare a secco a b.m. Disciogliere il residuo in 0,5 ml di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *iosciamina solfato R* in 9 ml di *metanolo R*. Disciogliere 15 mg di *scopolamina bromidrato R* in 10 ml di *metanolo R*. A 8 ml della soluzione di *iosciamina solfato* aggiungere 1,8 ml della soluzione di *scopolamina bromidrato*.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande, 10 µl e 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 3 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 7 volumi di *acqua R* e 90 volumi di *acetone R*. Seccare la lastra a 100-105 °C per 15 min e lasciar raffreddare. Spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R2* (per una lastra di 200 mm di lato) fino a comparsa delle bande di colore arancione o bruno su fondo giallo. Le bande dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame sono simili per posizione (*iosciamina* nel terzo inferiore e *scopolamina* nel terzo superiore del cromatogramma) e colore a quelle dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione di riferimento. Le dimensioni delle bande dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame non sono inferiori a quelle delle bande corrispondenti nel cromatogramma ottenuto con lo stesso volume della soluzione di riferimento. Sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame possono essere visibili deboli bande secondarie, specialmente verso la metà del percorso del cromatogramma ottenuto con

20 µl della soluzione in esame o presso il punto di partenza, nel cromatogramma ottenuto con 10 µl della soluzione in esame. Spruzzare, con *sodio nitrito soluzione R* fino a che lo strato è trasparente. Esaminare dopo 15 min. La colorazione delle bande corrispondenti alla *iosciamina* nei cromatogrammi ottenuti con la soluzione di riferimento e in quelli ottenuti con la soluzione in esame vira dal bruno al bruno-rossastro, ma non al blu-grigiastro (*atropina*) e le eventuali bande secondarie scompaiono.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In ogni tappa dell'estrazione è necessario verificare che gli alcaloidi siano stati completamente estratti. Se l'estrazione è nella fase organica, evaporare a secco qualche millilitro dell'ultima fase organica separata, riprendere con *acido solforico 0,25 M* e verificare l'assenza di alcaloidi con *potassio tetraiodomercurato soluzione R*. Se l'estrazione è nella fase acquosa acida, utilizzare qualche millilitro dell'ultima fase acquosa acida separata e verificare l'assenza di alcaloidi con *potassio tetraiodomercurato soluzione R*.

Diluire 10,0 g di estratto fluido con 10 ml di *acqua R*. Alcalinizzare con 5 ml di *ammoniaca R* ed estrarre con porzioni successive, ciascuna da 40 ml, di una miscela di 1 volume di *diclorometano R* e di *etere esente da perossidi R* fino ad estrazione completa degli alcaloidi. Ridurre il volume dell'estratto a circa 50 ml per distillazione a b.m. e versare questo liquido in un imbuto separatore, risciacquando con *etere esente da perossidi R*. Aggiungere al liquido ottenuto una quantità di *etere esente da perossidi R* pari ad almeno 2,1 volte il suo volume, in modo da ottenere una fase di densità nettamente inferiore a quella dell'acqua. Agitare con 3 porzioni successive ciascuna da 20 ml di *acido solforico 0,25 M* fino ad estrazione completa degli alcaloidi. Separare le fasi, se necessario, centrifugando e versare le frazioni acide in un secondo imbuto separatore. Alcalinizzare le soluzioni acide, riunite, con *ammoniaca R* ed agitare con 3 porzioni successive ciascuna da 30 ml di *diclorometano R* fino a completa estrazione degli alcaloidi. Alle fasi organiche riunite aggiungere 4 g di *sodio solfato anidro R* e lasciare a riposo per 30 min, agitando di tanto in tanto. Decantare il diclorometano, lavare il sodio solfato con 3 porzioni successive ciascuna da 10 ml di *diclorometano R*. Evaporare a secco le fasi organiche riunite, scaldando a b.m. ed essiccare il residuo in stufa a 100-105 °C per 15 min. Disciogliere il residuo in alcuni millilitri di *diclorometano R*, evaporare a secco scaldando a b.m. ed essiccare il residuo in stufa a 100-105 °C per 15 min. Disciogliere il residuo in alcuni millilitri di *diclorometano R*, aggiungere

Bergamotto essenza

20,0 ml di *acido solforico 0,01 M* ed eliminare il diclorometano per evaporazione a b.m. Titolare l'eccesso di acido con *sodio idrossido 0,02 M* in presenza di *rosso metile indicatore misto R*.

Calcolare il contenuto percentuale di alcaloidi totali, espressi come iosciamina, mediante l'espressione:

$$\frac{57,88(20 - n)}{100 \times m}$$

n = millilitri di *sodio idrossido 0,02 M* utilizzati,

m = massa della droga usata, in grammi.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

Vedere la monografia *Estratti (0765)* (Estratti fluidi).

BERGAMOTTO ESSENZA

Bergamiae aetheroleum

DEFINIZIONE

L'essenza di bergamotto si ottiene a freddo con procedimenti meccanici appropriati dall'epicarpo e parte del mesocarpo del frutto fresco di *Citrus bergamia* Risso et Poiteau.

CARATTERI

Liquido mobile, limpido, di colore da giallo-verde a verde, con odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 1 ml della sostanza in esame in 1 ml di *toluene R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *citroptene R* e 5 mg di *bergaptene R* in *toluene R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande da 20 mm × 3 mm, 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 75 volumi di *esano R* e 25 volumi di

etile acetato R. Lasciare seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, nel terzo inferiore, una banda a fluorescenza azzurro chiaro, dovuta al citroptene e, subito sotto, la banda gialla del bergaptene. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta, nella parte mediana, una banda gialla dovuta alla bergamottina e, al disotto di questa, una banda azzurro chiaro dovuta alla 5-geranilossi-7-metossicumarina. Inoltre presenta la banda dovuta al citroptene e, al disotto di questa, la banda gialla dovuta al bergaptene; bande non identificate possono apparire al disotto della banda del bergaptene. Esaminata alla luce ultravioletta a 365 nm, la banda dovuta al bergaptene presenta una fluorescenza gialla, quella del citroptene presenta una fluorescenza blu-violacea brillante, quella della 5-geranilossi-7-metossi-cumarina una fluorescenza blu brillante e quella della bergamottina una fluorescenza gialla.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio Profilo cromatografico. I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili per tempo di ritenzione ai picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Da 0,876 a 0,884.

Indice di rifrazione (2.2.6). Da 1,464 a 1,468.

Rotazione ottica (2.2.7). Da +8° a +30°.

Profilo cromatografico. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 µl di *α-pine-ne R*, 10 µl di *sabinene R*, 20 µl di *β-pine-ne R*, 300 µl di *limonene R*, 20 µl di *γ-terpinene R*, 10 µl di *linalolo R*, 100 µl di *linalile acetato R*, 20 µl di *citrone R*, 10 µl di *geranile acetato R*, 10 µl di *cariofillene R* in 10 ml di *esano R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 60 m e con diametro interno di circa 0,25 mm, rivestita internamente con uno strato di *macrogol 20000 R* come fase stazionaria,

- elio per cromatografia R come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- un rapporto di frazionamento 1:100.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 8 min; quindi innalzarla, ad una velocità di 3 °C per min, a 180 °C e mantenerla a 180 °C per 5 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 270 °C. Iniettare circa 0,1-0,3 µl della soluzione di riferimento. Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Notare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se il numero di piatti teorici è almeno 30000. Iniettare circa 0,1 µl della soluzione in esame. Usando i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento, individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame. Non considerare il picco corrispondente al solvente. Calcolare il contenuto percentuale dei componenti mediante il procedimento di normalizzazione, assumendo come unitario il fattore di risposta. Le percentuali dei componenti più caratteristici per l'essenza di bergamotto tipo Italia, cui si riferisce il cromatogramma riportato in figura, sono situate entro i seguenti intervalli:

α-Pinene	da 0,7 a 0,2 per cento
Sabinene	da 0,5 a 2,0 per cento
β-Pinene	da 5,0 a 10,0 per cento
Limonene	da 30,0 a 50,0 per cento
γ-Terpinene	da 6,0 a 18,5 per cento
Linalolo	da 6,0 a 15,0 per cento
Linalile acetato	da 23,0 a 35,0 per cento
Geraniale	meno dello 0,5 per cento
Geranile acetato	da 0,1 a 0,7 per cento
Cariofillene	da 0,2 a 0,5 per cento

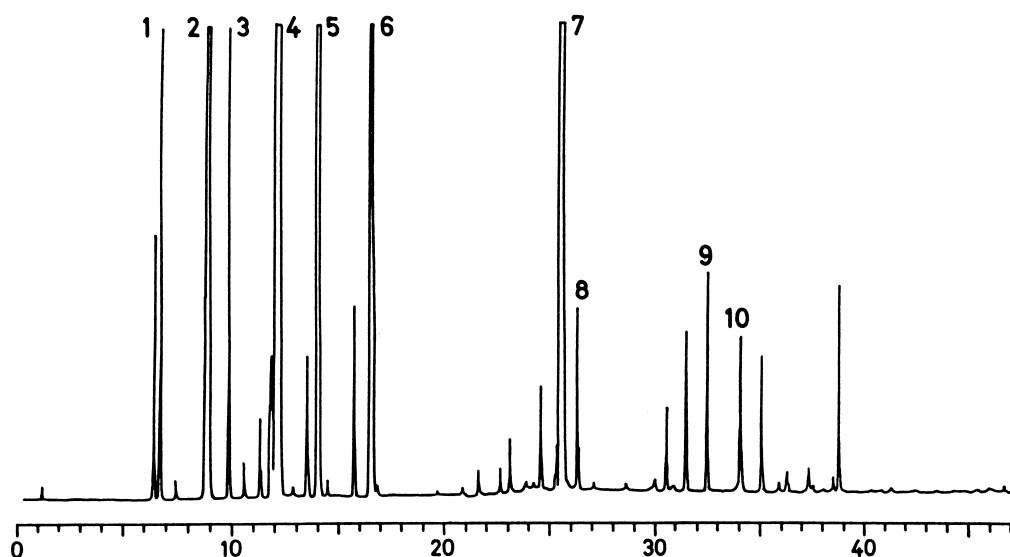
CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben riempito, ermeticamente chiuso, protetto dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica se l'essenza di bergamotto è di tipo Italia.

Il cromatogramma tipo è dato per informazione e guida nell'applicazione del metodo analitico. Esso non è parte dei requisiti della monografia.

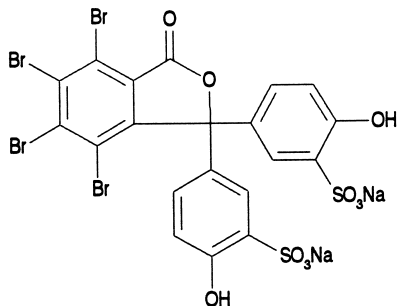


Cromatogramma tipo dell'essenza di bergamotto

- | | | |
|-------------|---------------------|---------------------|
| 1. α-Pinene | 5. γ-Terpinene | 9. Geranile acetato |
| 2. Sabinene | 6. Linalolo | 10. Cariofillene |
| 3. β-Pinene | 7. Linalile acetato | |
| 4. Limonene | 8. Geraniale | |

BROMOSOLFTALEINA SODICA

Bromosulphophtaleinum natricum



$C_{20}H_8Br_4Na_2O_{10}S_2$

M_r 838,0

DEFINIZIONE

La bromosolftaleina sodica è il sale disodico dell'acido 5,5'-(4,5,6,7-tetrabromoftalidiliden)bis(2-idrossibenzen-solfonico). Contiene non meno del 36,0 per cento e non più del 39,0 per cento di Br (A_r 79,90) e non meno del 7,4 per cento e non più dell'8,2 per cento di S (A_r 32,06), calcolati con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca, igroscopica, solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool e in acetone.

IDENTIFICAZIONE

- A. Disciogliere 50 mg in *sodio idrossido* 0,05 M e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Diluire 1 ml a 100 ml con lo stesso solvente. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione, al massimo di assorbimento a 580 nm, è di circa 0,400.
- B. Mescolare 0,1 g della sostanza in esame con 0,5 g di *sodio carbonato* R, riscaldare sulla fiamma in adatto crogiuolo fino a completa carbonizzazione. Far raffreddare, riprendere il residuo con 5 ml di *acqua* R, riscaldare per 5 min a b.m. e filtrare. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei bromuri.
- C. Dà la reazione caratteristica (a) del sodio (2.3.1).

SAGGI

Aspetto della soluzione. Disciogliere 0,20 g in 10 ml di *acqua* R. La soluzione è limpida (2.2.1) ed incolore (Metodo II, 2.2.2).

Calcio. Incenerire 5,0 g in un crogiuolo di platino, fino alla scomparsa delle particelle carboniose. Raffreddare ed aggiungere 1 ml di *acido cloridrico* R e 10 ml di *acqua* R e scaldare a b.m. per 5 min, aggiungere 1 g di *ammonio solfato* R, 4 ml di *ammoniaca diluita* R1 e scaldare ancora per 5 min. Trasferire il contenuto del crogiuolo in un pallone lavando con circa 50 ml di *acqua* R, aggiungere 15 ml di *ammoniaca* R e diluire a 100 ml con *acqua* R. Aggiungere 0,3 ml di *sodio solfuro soluzione* R, 1 ml di *potassio cianuro soluzione* R, 74 ml di *etanolo* R e titolare con *sodio edetato* 0,01 M, in presenza di 0,1 g di *blu metiltimolo miscela composta* R, fino ad una debole colorazione verde. Non si consumano più di 6,25 ml di *sodio edetato* 0,01 M (500 ppm).

Alogenuri. Disciogliere 1,0 g in 100 ml di *acqua* R. A 5 ml della soluzione aggiungere 1 ml di *acido nitrico* 2 M e 1 ml di *argento nitrato soluzione* R1. Si produce non più che una debole opalescenza.

Solfati (2.4.13). Diluire 10,0 ml della soluzione preparata per il saggio precedente a 50 ml. A 10 ml della soluzione diluita aggiungere 0,25 ml di *acido cloridrico* 2 M, portare all'ebollizione ed aggiungere 1,5 ml di *bario cloruro soluzione* R1. La soluzione calda rimane limpida per almeno 2 min, per raffreddamento si possono formare cristalli del sale di bario della bromosolftaleina.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 5,0 per cento, determinata su 1,00 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Bromo. Determinare il contenuto di bromo mediante il metodo della combustione in ossigeno (2.5.10), su 0,2 g di sostanza in esame, adoperando una beuta con tappo a smeriglio da 1000 ml e facendo assorbire i prodotti della combustione da una miscela costituita da 10 ml di *sodio idrossido* 0,1 M, 0,5 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata* R e 10 ml di *acqua* R. A combustione completa, far bollire la soluzione per 5 min, raffreddare e acidificare con *acido nitrico diluito* R ed aggiungere 20 ml di *argento nitrato* 0,1 M. Titolare l'eccesso di argento nitrato con *ammonio tiocianato* 0,1 M, in presenza di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione* R2. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *ammonio tiocianato* 0,1 M, determinato per differenza tra le due titolazioni, equivale a 8,0 mg di Br.

Zolfo. Determinare il contenuto di zolfo mediante il metodo della combustione in ossigeno (2.5.10), su 0,2 g di sostanza in esame, adoperando una beuta con tappo a smeriglio da 1000 ml e facendo assorbire i prodotti della combustione da una miscela di 30 ml di *acqua R* e 0,5 ml di *idrogeno perossido soluzione concentrata R*. A combustione completa, aggiungere alla soluzione 2 ml di *acido cloridrico R* e diluire a 250 ml con *acqua R*. Scaldare fino all'ebollizione ed aggiungere, lentamente, 15 ml di *bario cloruro soluzione RI*. Continuare a scaldare a b.m. per 1 h, filtrare e lavare il precipitato ottenuto con *acqua RI*, seccare e calcinare ad una temperatura di circa 600 °C, finché due pesate successive del residuo non differiscano tra di loro per più dello 0,2 per cento.

1 g di residuo equivale a 137,4 mg di S.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso.

CAMOMILLA ESTRATTO IDROALCOLICO SECCO TITOLATO

*Matricariae extractum hydroalcoholicum siccum,
normatum*

DEFINIZIONE

L'estratto secco idroalcolico di camomilla si ottiene dalla *Camomilla comune fiore (0404)*. Contiene non meno dell'1,2 per cento di apigenina totale derivante dalla somma di apigenina libera e apigenina contenuta nell'apigenina-7-glucoside e nell'apigenina-7-(6-acetil)-glucoside.

PREPARAZIONE

L'estratto si prepara dalla droga (capolini essiccati) e da *alcool al 70 per cento V/V R* con un metodo appropriato secondo le prescrizioni della monografia *Estratti (0765)* (Estratti secchi), effettuando una sgrassatura dei percolati parzialmente concentrati.

CARATTERI

Polvere amorfa, igroscopica, di colore giallo-bruno.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29), come descritto nella Determinazione quantitativa.

I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili per tempo di ritenzione ai picchi ottenuti con la soluzione di riferimento (b).

SAGGI

pH (2.2.3). Tra 4,5 e 5,5, determinato sulla sospensione (10 g/l) in *acqua R*.

Acqua (2.5.12). Non più del 6 per cento, determinata su 0,50 g mediante il metodo semimicro.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori al 30,0 per cento, determinate su 1,0 g.

Metalli pesanti (2.4.8). Non superiori a 100 ppm, determinati sul residuo ottenuto dalle ceneri solforiche.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Disciogliere 250 mg in 25 ml di *alcool al 30 per cento V/V R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10,0 mg di *apigenina R* in 100 ml di una miscela di 1 volume di *acqua R*, 1 volume di *metanolo R* e 1 volume di *diossano R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 2 mg di *apigenina-7-glucoside R*, 2 mg di *apigenina-7-(6-acetil)glucoside R* e 2 mg di *apigenina R* in 100 ml di una miscela di 1 volume di *acqua R*, 1 volume di *metanolo R* e 1 volume di *diossano R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,22 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* o con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5-10 µm),
- come fase mobile *acetone nitrile R* in percentuale variante, con gradiente lineare dal 10 per cento al 50 per cento in *tampone citrato-fosfato soluzione a pH 2,4 R* con tempo di programmazione uguale a 100 min,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 335 nm,
- un registratore integratore avente la possibilità di programmare nel tempo le funzioni di integrazione,
- un sistema di pompaggio idoneo ad assicurare un flusso di 1,0 ml per minuto.

Carciofo estratto secco purificato e quantificato

Iniettare 10 µl di ciascuna soluzione. Preparare almeno 2 soluzioni di riferimento ed analizzare per almeno 3 volte. Preparare almeno 3 soluzioni in esame ed analizzare per almeno 3 volte.

Calcolare il contenuto di apigenina totale come somma di apigenina, apigenina-7-glucoside e apigenina-7-(6-acetil)glucoside, tutti espressi come apigenina tenendo conto dei rispettivi pesi molecolari.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

Vedere la monografia *Estratti (0765)* (Estratti secchi). Indicare il solvente utilizzato per la sgrassatura.

CARCIOFO ESTRATTO SECCO PURIFICATO E QUANTIFICATO

Cynarae extractum siccum raffinatum et quantificatum

DEFINIZIONE

L'estratto secco di carciofo si ottiene dai capolini freschi o congelati non dischiusi del carciofo (*Cynara scolymus* L.). Contiene non meno del 13,0 per cento e non più del 18,0 per cento di acidi caffeilchinici, calcolati come acido clorogenico (C₁₆H₁₈O₉; M_r 354,3), con riferimento all'estratto essiccato.

PREPARAZIONE

L'estratto si prepara dalla droga intera per trattamento con *metanolo al 65-85 per cento V/V R*, impiegando un metodo appropriato secondo le prescrizioni della monografia *Estratti (765)* (Estratti secchi) effettuando una sgrassatura con esano dei percolati parzialmente concentrati.

CARATTERI

Polvere di colore giallo-bruno.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice 60 F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. A 0,50 g aggiungere 20 ml di *alcool al 60 per cento V/V R*. Lasciare in contatto per 2 h agitando frequentemente, quindi filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *luteolina-7-glucoside R*, 10 mg di *rutina R*, 5 mg di *acido clorogenico R* e 10 mg di *acido caffeico R* in *metanolo R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande da 20 mm per 3 mm, 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 11 volumi di *acido formico anidro R*, 11 volumi di *acido acetico glaciale R*, 27 volumi di *acqua R* e 100 volumi di *etile acetato R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Esaminare alla luce ultravioletta di 365 nm; il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta una banda bruna con valore di *R_f* di circa 0,35 (rutina), una banda blu con valore di *R_f* di circa 0,50 (acido clorogenico), una banda bruna con valore di *R_f* di circa 0,60 (luteolina-7-glucoside) ed una banda blu con valore di *R_f* di circa 0,90 (acido caffeico). Il cromatogramma della soluzione in esame presenta generalmente bande corrispondenti per colore e posizione a quelle presenti nel cromatogramma della soluzione di riferimento ed in aggiunta una banda rossa tenue vicino il fronte del solvente. Polverizzare successivamente sui cromatogrammi una soluzione di *amminoetile difenilborato R* (10 g/l) in *metanolo R* e poi una soluzione (50 g/l) di *macrogol 4000 R* in *etanolo R*. Esaminato alla luce ultravioletta di 365 nm il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta una banda arancione con valore di *R_f* di circa 0,35 (rutina), una banda verde con valore di *R_f* di circa 0,50 (acido clorogenico), una banda arancione con valore di *R_f* di circa 0,60 (luteolina-7-glucoside) ed una banda verde con valore di *R_f* di circa 0,90 (acido caffeico). Il cromatogramma della soluzione in esame presenta generalmente delle bande corrispondenti per colore e posizione a quelle presenti nel cromatogramma della soluzione di riferimento ed in aggiunta una banda giallo-arancio con valore di *R_f* di circa 0,95.

B. La soluzione (20 g/l) in *alcool R* al 50 per cento *V/V* ed in *glicole propilenico R* al 50 per cento *V/V* è limpida o leggermente opalescente.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione (10 g/l) in *acqua R* compreso tra 4,5 e 6,0.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori al 30,0 per cento determinate su 1,0 g.

Acqua (2.5.12). Non più del 6,0 per cento, determinata su 0,5 g mediante il metodo semimicro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,15 g in 40 ml di *acqua R*; portare ad ebollizione ed aggiungere 2 ml di una soluzione satura di *piombo acetato R*. Raffreddare, centrifugare ed eliminare la soluzione limpida soprastante, lavare il precipitato con 5 ml di *acqua R*, centrifugare nuovamente eliminando l'acqua. Disciogliere il precipitato con 70 ml di *acido acetico diluito R* e scaldare all'ebollizione. Filtrare la miscela ancora calda, aggiungere 2 ml di una soluzione (200 ml/l) di *acido solforico R*, centrifugare e trasferire la soluzione limpida in un matraccio tarato da 100 ml. Lavare il precipitato con 5 ml di *acido acetico diluito R*, centrifugare e trasferire la soluzione limpida nel precedente matraccio. Portare a volume con lo stesso solvente ed agitare. Diluire 2 ml a 50 ml con *metanolo R* ed agitare. Determinare l'assorbanza della soluzione al massimo di assorbimento di circa 325 nm, usando come bianco una soluzione ottenuta diluendo 2 ml di *acido acetico diluito R* a 50 ml con *metanolo R*. Calcolare il contenuto percentuale di acidi caffeilchinici, espressi come acido clorogenico usando la formula

$$\frac{A \times 2500}{485 \times m}$$

tenendo conto che l'assorbanza specifica dell'acido clorogenico è di 485.

A = assorbanza della soluzione in esame,

m = massa della droga usata in grammi.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

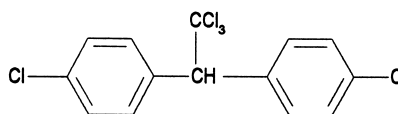
Vedere la monografia *Estratti (0765)* (Estratti secchi).

L'etichetta indica inoltre:

- il solvente utilizzato per la sgrassatura.

CLOFENOTANO

Chlophenotanium



$C_{14}H_9Cl_5$

M_r 354,5

DEFINIZIONE

Il clofenotano è una miscela costituita principalmente di 1,1,1-tricloro-2,2-bis-(4-clorofenil)etano con quantità variabili di un isomero e del carbinolo, risultante dalla condensazione di clorobenzene con cloralio idrato. Contiene non meno del 9,5 per cento e non più dell'11,5 per cento di cloro idrolizzabile e non meno dell'80,0 per cento di 1,1,1-tricloro-2,2-bis-(4-clorofenil)etano.

CARATTERI

Cristalli, lamine, polvere o piccoli granuli bianchi o quasi bianchi, praticamente insolubili in acqua, moderatamente solubili in alcool e nella maggior parte degli oli non volatili.

IDENTIFICAZIONE

- Scaldato fino a fusione, si decompone svolgendo vapori di acido cloridrico.
- Scaldare una piccola quantità con una soluzione (5 g/l) di *idrochinone R* in *acido solforico esente da azoto R*. Si sviluppa una colorazione rosso-vino.

SAGGI

Punto di fusione (2.2.14). Superiore a 95 °C.

Acidità. Disciogliere 10,0 g in 25 ml di *acetone R*, scaldando se necessario; aggiungere 75 ml di *acqua R* e titolare immediatamente con *sodio idrossido 0,1 M* in presenza di *rosso metile soluzione R*. Effettuare una prova in bianco. La differenza tra le due titolazioni non è superiore a 6,0 ml.

Acqua (2.5.12). Non più dell'1,0 per cento, determinata mediante il metodo semimicro.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori all'1,0 per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Cloro idrolizzabile. A 0,500 g aggiungere 40 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica 0,5 M*, scaldare leggermente a ricadere per 30 min e lavare il refrigerante con *acqua R*. Lasciar raffreddare, aggiungere 2,5 ml di *acido nitrico R*, 25 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 5 ml di *dibutile ftalato R*, agitare energicamente e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* in presenza di 5 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R1*. Effettuare una prova in bianco. La differenza tra le due titolazioni rappresenta la quantità di *argento nitrato 0,1 M* necessario per far precipitare il cloro idrolizzabile.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di cloro idrolizzabile.

1,1,1-tricloro-2,2-bis-(4-clorofenil)etano. Introdurre 10,0 g in un bicchiere da 150 ml con i bordi non rovesciati, aggiungere 50 ml di *1,1,1-tricloro-2,2-bis-(4-clorofenil)etano soluzione R*, chiudere il bicchiere con una beuta contenente acqua fredda, avente funzione di condensatore e scaldare leggermente fino all'ebollizione per facilitare la soluzione senza perdita di alcool. Lasciar raffreddare lentamente fino a cristallizzazione incipiente, agitare leggermente e lasciar cristallizzare. Dopo 1 h, lasciare a circa 18 °C per un'altra ora o fino a cristallizzazione completa. Rompere i cristalli con una bacchetta di vetro e filtrare attraverso un crogiuolo tarato, a setto poroso, lavando il filtro con altri 20 ml di *1,1,1-tricloro-2,2-bis-(4-clorofenil)etano soluzione R*. Comprimere i cristalli con la bacchetta di vetro e continuare l'aspirazione per 5 min; eliminare la maggior parte dell'alcool a 40 °C e seccare il residuo a 80 °C fino a massa costante. Il residuo pesa non meno di 8,0 g e fonde a circa 108 °C.

AVVERTENZE

Evitare il contatto prolungato e l'aspirazione.

DISINFETTANTI PER USO UMANO O VETERINARIO (ANTISETTICI)

Medicamenta mephitis ad
usum humanum, veterinarium

I disinfettanti sono prodotti in grado di uccidere forme microbiche viventi in condizioni predefinite. Sono utilizzati per uccidere microrganismi patogeni o indesiderati e vanno a diretto contatto con la cute e le mucose. La loro attività deve essere ad ampio spettro e l'eventuale azione nei confronti di microrganismi specifici deve essere dichiarata. Deve, inoltre, essere precisata la destinazione di impiego e la durata di applicazione

necessaria ad ottenere l'attività stabilita. La presente monografia stabilisce, per mezzo di saggi *in vitro*, le modalità di controllo dell'attività battericida di base del prodotto finito. Ai fini dell'impiego del prodotto come disinfettante devono essere effettuati ulteriori saggi nelle condizioni appropriate all'uso cui il disinfettante è destinato. La verifica va fatta nei confronti di appropriati microrganismi di riferimento. I metodi descritti si applicano alle preparazioni disinfettanti miscibili con acqua. L'eventuale neutralizzante da utilizzare deve essere definito. I terreni da utilizzare per la coltura dei microrganismi, i diluenti, i neutralizzanti ed i relativi metodi di preparazione sono descritti in Appendice.

CONTROLLO DELL'ATTIVITA'

Microrganismi di riferimento

Utilizzare i seguenti microrganismi:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Preparazione dell'inoculo

Per entrambi i microrganismi dalle colture di collezione preparare una subcoltura in TSA (appendice 1). Dopo 18-24 h di incubazione a 36 °C ± 1 °C preparare da questa, nello stesso modo, una seconda subcoltura ed incubare per 18-24 h. Quest'ultima è utilizzata come coltura di lavoro per preparare la sospensione batterica, la cui preparazione avviene secondo le seguenti modalità: raccogliere la patina e porre la stessa in una beuta sterile da 100 ml contenente 5 g di palline di vetro e 10 ml di diluente (appendice 2). Dopo agitazione per 3 min trasferire la sospensione in un provettone e con il diluente aggiustare il numero delle Unità Formanti Colonia per millilitro (UFC/ml) fino ad un valore presunto di $1,5-5 \times 10^8$. Mantenere questa sospensione a 20 °C ± 1 °C a b.m. e usare entro 2 h. Per la conta di questa sospensione preparare le diluizioni 10^{-6} e 10^{-7} , trasferire 1 ml di ogni diluizione in una piastra sterile e aggiungere 12-15 ml di TSA disciolto e raffreddato a 45 °C ± 1 °C. Dopo incubazione a 36 °C ± 1 °C per 24 h contare le colonie determinandone il numero in 1 ml. Utilizzare per i calcoli solo piastre che contengano un numero di UFC < 300. Per ogni diluizione usare almeno due piastre; inoltre, perché il saggio sia valido, in almeno una piastra il numero delle UFC deve essere > 15.

Calcolare la media ponderata utilizzando la formula seguente:

$$\text{UFC/ml} = \frac{c}{(n_1 + 0,1 n_2)d}$$

c = somma delle colonie contate in tutte le piastre considerate,

n_1 = numero delle piastre considerate della prima diluizione,

n_2 = numero delle piastre considerate della seconda diluizione,

d = fattore di diluizione corrispondente alla prima diluizione considerata.

Il numero ottenuto viene arrotondato alla prima cifra significativa dopo la virgola.

Controllo del disinfettante

Sottoporre a saggio tre diverse concentrazioni del prodotto in modo da includere almeno due concentrazioni attive. Le concentrazioni da sottoporre a saggio debbono essere in progressione geometrica con un fattore di almeno 2. La concentrazione del prodotto in esame è 1,25 volte quella richiesta dal saggio. Per i prodotti liquidi effettuare le diluizioni in acqua. Disciogliere i prodotti solidi in acqua utilizzando almeno 1000 mg \pm 10 mg di prodotto ed effettuare le diluizioni successive in acqua. Aggiungere la sospensione batterica ad un campione del prodotto in esame e mantenere la preparazione a 20 °C per un tempo scelto fra i seguenti 1, 5, 15, 30, 45, 60 min \pm 10 s. Il metodo di elezione per sottoporre a saggio l'attività del disinfettante è quello per diluizione-neutralizzazione (a), tuttavia in mancanza di un neutralizzante adatto può essere usato il metodo per filtrazione su membrana (b).

a) Metodo per diluizione-neutralizzazione

Equilibrare prima del saggio tutti i reattivi ad una temperatura di 20 °C \pm 1 °C. Per ogni diluizione del prodotto in esame prelevare 8 ml e porli in un provettone aggiungendo 1 ml di *acqua R* e 1 ml di sospensione batterica (N) contenente $1,5-5 \times 10^8$ UFC/ml. Porre la sospensione così ottenuta immediatamente a b.m. a 20 °C \pm 1 °C; al tempo stabilito prelevare 1 ml della sospensione in esame che si aggiunge a 8 ml di neutralizzante (appendice 4) e ad 1 ml di *acqua R*. Dopo un tempo di neutralizzazione di 5 min \pm 10 s allestire due piastre ponendo in ognuna 1 ml di sospensione batte-

rica con neutralizzante e 12-15 ml di TSA disciolto e raffreddato a 45 °C \pm 1 °C. Eseguire questa procedura per entrambi i microrganismi di riferimento. Dopo incubazione a 36 °C \pm 1 °C per 24 h, eseguire la conta delle colonie e calcolare il numero delle UFC nella sospensione da esaminare (N_a) mediante la formula seguente:

$$\text{UFC/ml} = \frac{c}{n \times d \times v}$$

c = somma delle colonie nelle 2 piastre,

n = numero delle piastre considerate,

d = fattore di diluizione (in questo caso 10^{-1}),

v = volume usato (in questo caso 1 ml, nel caso del metodo per filtrazione e nella procedura di convalida 0,1 ml).

b) Metodo per filtrazione su membrana

Equilibrare prima del saggio tutti i reattivi ad una temperatura di 20 °C \pm 1 °C. Per ogni diluizione del prodotto da esaminare prelevare 8 ml e porli in un provettone con 1 ml di acqua e 1 ml di sospensione batterica (N) di ognuno dei due ceppi batterici, contenente $1,5-5 \times 10^8$ UFC/ml. Porre la sospensione così ottenuta immediatamente a 20 °C \pm 1 °C; al tempo stabilito prelevare, in doppio, 0,1 ml della sospensione da esaminare e porli in due apparecchiature per filtrazione su membrana contenenti ognuna 50 ml di soluzione di lavaggio (appendice 3). Filtrare le preparazioni in un tempo che non sia superiore a 1 min. Lavare le membrane con la soluzione di lavaggio utilizzando un volume di 150-500 ml, quindi trasferirle sulla superficie di due piastre di TSA. Dopo incubazione a 36 °C \pm 1 °C per 24 h eseguire la conta delle colonie e calcolare il numero delle UFC/ml nella sospensione in esame secondo la formula riportata nel metodo per diluizione-neutralizzazione.

Convalida dei metodi per diluizione-neutralizzazione (a) e filtrazione su membrana (b)

Per ognuno dei due microrganismi da esaminare diluire la sospensione batterica con il diluente in modo da avere 6×10^2 - 3×10^3 UFC/ml. Per la conta preparare una diluizione 10^{-1} UFC/ml. Prelevare in doppio 1 ml della sospensione e porli in due piastre a cui si aggiungono 12-15 ml di TSA disciolto e raffreddato a 45 °C. Dopo incubazione delle piastre a 36 °C \pm 1 °C per 24 h

Disinfettanti per uso umano o veterinario (antisettici)

contare le colonie e calcolare le UFC/ml secondo la formula riportata nel metodo per diluizione-neutralizzazione.

a) Metodo per diluizione-neutralizzazione

A due provettoni contenenti ciascuno 8 ml di neutralizzante e posti a $20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ aggiungere:

- al primo provettone 1 ml d'acqua per il controllo del neutralizzante,
- al secondo provettone 1 ml di disinfettante preparato usando la concentrazione più alta usata nel saggio avendo aggiunto 2 parti d'acqua a 8 parti di disinfettante. Incubare questa miscela a $20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ per 5 min a b.m.

Aggiungere quindi 1 ml di sospensione contenente 6×10^2 - 3×10^3 UFC/ml ad ogni provettone ed incubare a $20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ per 30 min. Prelevare in doppio da ogni provettone 1 ml dei controlli di neutralizzazione e porli in piastre a cui si aggiungono 12-15 ml di TSA disciolto e raffreddato a $45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. Dopo incubazione a $36\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ per 24 h determinare il numero delle UFC per ogni piastra. Determinare il numero delle UFC/ml nel controllo di tossicità del neutralizzante (N_V) ed in quello di attività del neutralizzante (n_V) mediante la formula indicata nel metodo per diluizione-neutralizzazione.

b) Metodo per filtrazione su membrana

Equilibrare preventivamente tutte le soluzioni a $20\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. Quindi per il controllo di filtrazione trasferire in doppio 0,1 ml di sospensione batterica contenenti 6×10^2 - 3×10^3 UFC/ml in due apparecchiature per filtrazione contenenti ognuna 50 ml di soluzione di lavaggio. Filtrare, lavare con 50 ml di acqua e trasferire le membrane su due piastre di TSA. Per il controllo di filtrazione del metodo preparare una soluzione del prodotto alla più alta concentrazione usata nel saggio e aggiungere 2 parti di acqua a 8 parti di prodotto. Quindi prelevare, in doppio 0,1 ml di questa soluzione e porli in due apparecchiature per filtrazione contenenti ognuna 50 ml di liquido di lavaggio. Filtrare e lavare la membrana con 150-500 ml di liquido di lavaggio. Di nuovo coprire la membrana con 50 ml di liquido di lavaggio ed aggiungere 0,1 ml di sospensione batterica contenente 6×10^2 - 3×10^3 UFC/ml. Filtrare, lavare ancora con 50 ml d'acqua e trasferire

le membrane su due piastre di TSA. Dopo incubazione a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ per 24 h determinare il numero delle UFC/ml nel controllo di filtrazione (N_V) e nel controllo di filtrazione del saggio (n_V) usando la formula riportata nel metodo per diluizione-neutralizzazione.

Verifica della metodologia

I risultati sono validi solo se:

N è compreso fra $1,5 \times 10^8$ e 5×10^8 UFC/ml,

N_V è compreso fra 6×10^2 e 3×10^3 UFC/ml,

N_V è uguale o maggiore di $0,05 N_V$,

n_V è uguale o maggiore di $0,5 N_V$.

N = numero delle UFC/ml della sospensione batterica iniziale,

N_V = numero delle UFC/ml del controllo di tossicità del neutralizzante,

N_V = numero delle UFC/ml del controllo di tossicità del neutralizzante o del controllo filtrazione (senza aggiunta del disinfettante),

n_V = numero delle UFC/ml del controllo di attività del neutralizzante nel saggio per diluizione-neutralizzazione o nel controllo del saggio per filtrazione.

Per ogni microrganismo e concentrazione del prodotto la riduzione del numero delle UFC/ml nella sospensione da esaminare è calcolata nel seguente modo:

$$\text{riduzione UFC/ml} = \frac{N \times 10^1}{N_a}$$

N = numero delle UFC/ml nella sospensione iniziale,

N_a = numero delle UFC/ml presenti dopo il contatto del disinfettante.

Il prodotto soddisfa al saggio se può dimostrare una riduzione nel numero delle UFC/ml di almeno 5 log nel tempo prescelto per la prova e se non supera i 60 min a 20 °C .

APPENDICE

1) Triptone soia agar (TSA)

Terreno usato per il mantenimento dei ceppi e per la conta delle UFC.

Triptone pancreatico di caseina	15 g
Peptone papaico di soia	5 g
Sodio cloruro R	5 g
Agar R	5 g
Acqua R	1000 ml

Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 min. Dopo sterilizzazione, il pH, misurato a 20 °C, è compreso tra 7,0 e 7,4.

2) Diluente

Soluzione Triptone-cloruro di sodio.

Triptone pancreatico di caseina	1 g
Sodio cloruro R	8,5 g
Acqua R	1000 ml

Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 min. Dopo sterilizzazione, il pH, misurato a 20 °C, è compreso tra 6,8 e 7,2.

3) Neutralizzante

Il seguente neutralizzante può essere utilizzato nel saggio.

Polisorbato 80 R	30 g/l
Saponina	30 g/l
L-istidina R	1 g/l
Lecitina	3 g/l
*Sodio tiosolfato R	5 g/l

*Disciolto nel diluente o in tampone fosfato 0,0025 M.

Altri neutralizzanti possono essere usati sulla base dell'esperienza o sulla base della letteratura scientifica. La loro attività deve comunque essere sempre convalidata. Il neutralizzante deve essere sterile.

4) Liquido di lavaggio (per filtrazione su membrana)

Deve essere sterile e compatibile con la membrana. Lista dei prodotti che possono essere usati a questo scopo.

Acqua R

Diluente

Polisorbato 80 R soluzione acquosa allo 0,1 per cento V/V

Neutralizzante

Soluzioni tampone

Altri liquidi possono essere usati purché si sia dimostrato che non interferiscono con il saggio.

FERRO OSSIDO GIALLO

Ferrum oxydatum flavum

FeO(OH) *M_r* 88,85

DEFINIZIONE

Il ferro ossido giallo contiene non meno del 97,0 per cento e non più del 100,5 per cento di ferro(-ico) ossido (Fe₂O₃), calcolato con riferimento alla sostanza calcinata.

CARATTERI

Polvere fine, gialla o giallo-brunastra, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

IDENTIFICAZIONE

1 ml della soluzione S1 (vedi Saggi), diluita a 250 ml con acqua R, dà la reazione caratteristica (b) del ferro (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S1. A 2,0 g aggiungere 25 ml di acido cloridrico Pb R e 25 ml di acqua R, bollire a ricadere per 4 h. Raffreddare, filtrare e, se necessario, diluire a 100 ml con acqua R.

Ferro ossido giallo

Soluzione S2. A 20,0 ml della soluzione S1 aggiungere 25 ml di *acido cloridrico Pb R* ed estrarre con tre porzioni successive, da 25 ml ciascuna, di *etere isopropilico R*, eliminando ogni volta la fase eterea. Alla fase acquosa aggiungere 100 mg di *sodio solfato R* ed evaporare a secco. Riprendere il residuo con 1 ml di *acido nitrico Pb R* e diluire a 20,0 ml con *acqua R*.

Sostanze solubili in acqua. Sospendere 2,0 g in 100 ml di *acqua R* e scaldare all'ebollizione a b.m. per 2 h. Filtrare e lavare il filtro con *acqua R*. Evaporare il filtrato e le acque di lavaggio, riuniti, e seccare il residuo a 105 °C per 1 h. Il residuo pesa non più di 20 mg (1 per cento).

Sostanze solubili in acido. Sospendere 2,0 g in 25 ml di *acido cloridrico R*, scaldare all'ebollizione a b.m. per 20 min ed aggiungere 100 ml di *acqua R*. Filtrare e lavare il filtro con *acqua R*. Evaporare il filtrato e le acque di lavaggio, riuniti, e seccare il residuo a 105 °C per 1 h. Il residuo pesa non più di 2 mg (0,1 per cento).

Arsenico (2.4.2). 25,0 ml della soluzione S1 soddisfano al saggio limite A per l'arsenico (3 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando 1,5 ml della *soluzione standard di arsenico (As 1 ppm) R* e 23,5 ml di *acqua R*.

Mercurio. Non superiore a 3 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire 10,0 ml della soluzione S1 a 30,0 ml con una soluzione (250 g/l) di *acido cloridrico Pb R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di mercurio (Hg 10 ppm) R*, diluita con una soluzione (250 g/l) di *acido cloridrico Pb R*, in modo da ottenere soluzioni contenenti 0,015 µg, 0,020 µg e 0,025 µg di mercurio per millilitro.

Aggiungere 10 ml di *acqua R* e 1 ml di *stagno(-oso) cloruro soluzione R1* a 5 ml di ciascuna soluzione. Misurare l'assorbanza a 253,7 nm, utilizzando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al mercurio ed una fiamma di composizione idonea.

Piombo. Non superiore a 10 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire 25,0 ml della soluzione S2 a 50,0 ml con una soluzione (100 ml/l) di *acido nitrico Pb R*, contenente 5 g/l di *sodio solfato R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*, diluita con una soluzione (100 ml/l) di *acido nitrico Pb R*, e contenente 5 g/l di *sodio solfato R* in modo da ottenere soluzioni contenenti 0,3 µg, 0,4 µg e 0,5 µg di piombo per millilitro.

Misurare l'assorbanza a 283,3 nm, utilizzando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al piombo e una fiamma aria/acetilene.

Grandezza delle particelle (2.9.13). Soddisfa al Saggio limite di grandezza delle particelle mediante microscopia. Il 99 per cento delle particelle ha una dimensione inferiore a 75 µ.

Perdita alla calcinazione. Non superiore al 13,0 per cento determinata su 2,0 g per calcinazione a 800 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sospendere 1,500 g in 25 ml di *acido cloridrico R* e scaldare a b.m. bollente fino a completa solubilizzazione. Aggiungere 10 ml di *idrogeno perossido soluzione di-luita R* ed evaporare a b.m. fino quasi a secco. Riprendere il residuo con 5 ml di *acido cloridrico R*, scaldare fino a completa solubilizzazione, aggiungere 25 ml di *acqua R*. Filtrare e lavare il filtro con *acqua R*. Diluire il filtrato e le acque di lavaggio, riuniti, a 250,0 ml con *acqua R*. Trasferire 50,0 ml di questa soluzione in una beuta con tappo a smeriglio, aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* e 5 ml di *acido cloridrico R*. Chiudere la beuta immediatamente, mescolare e lasciare a riposo per 15 min, al riparo dalla luce. Aggiungere 50 ml di *acqua R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,1 M*, in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 7,985 mg di Fe_2O_3 .

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso.

FERRO OSSIDO ROSSO

Ferrum oxydatum rubrum

Fe₂O₃M_r 159,7

DEFINIZIONE

Il ferro ossido rosso contiene non meno del 97,0 per cento e non più del 100,5 per cento di ferro(-ico) ossido, calcolato con riferimento alla sostanza calcinata.

CARATTERI

Polvere fine, rossa, praticamente insolubile in acqua e in alcool.

IDENTIFICAZIONE

1 ml della soluzione S1 (vedi Saggi), diluita a 250 ml con *acqua R* dà la reazione caratteristica (b) del ferro (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S1. A 2,0 g aggiungere 25 ml di *acido cloridrico Pb R* e 25 ml di *acqua R*, bollire a ricadere per 4 h. Raffreddare, filtrare e, se necessario, diluire a 100 ml con *acqua R*.

Soluzione S2. A 20,0 ml della soluzione S1 aggiungere 25 ml di *acido cloridrico Pb R* ed estrarre con tre porzioni successive, da 25 ml ciascuna, di *etere isopropilico R*, eliminando ogni volta la fase eterea. Alla fase acquosa aggiungere 100 mg di *sodio solfato R* ed evaporare a secco. Riprendere il residuo con 1 ml di *acido nitrico Pb R* e diluire a 20,0 ml con *acqua R*.

Sostanze solubili in acqua. Sospendere 2,0 g in 100 ml di *acqua R* e scaldare all'ebollizione a b.m. per 2 h. Filtrare e lavare il filtro con *acqua R*. Evaporare il filtrato e le acque di lavaggio, riuniti, e seccare il residuo a 105 °C per 1 h. Il residuo pesa non più di 20 mg (1 per cento).

Sostanze solubili in acido. Sospendere 2,0 g in 25 ml di *acido cloridrico R*, scaldare all'ebollizione a b.m. per 20 min ed aggiungere 100 ml di *acqua R*. Filtrare e

lavare il filtro con *acqua R*. Evaporare il filtrato e le acque di lavaggio, riuniti, e seccare il residuo a 105 °C per 1 h. Il residuo pesa non più di 2 mg (0,1 per cento).

Arsenico (2.4.2). 25,0 ml della soluzione S1 soddisfano al saggio limite A per l'arsenico (3 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando 1,5 ml della *soluzione standard di arsenico (As 1 ppm) R* e 23,5 ml di *acqua R*.

Mercurio. Non superiore a 3 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire 10,0 ml della soluzione S1 a 30,0 ml con una soluzione (250 g/l) di *acido cloridrico Pb R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di mercurio (Hg 10 ppm) R*, diluita con una soluzione (250 g/l) di *acido cloridrico Pb R*, in modo da ottenere soluzioni contenenti 0,015 µg, 0,020 µg e 0,025 µg di mercurio per millilitro.

Aggiungere 10 ml di *acqua R* e 1 ml di *stagno(-oso) cloruro soluzione R1* a 5 ml di ciascuna soluzione. Misurare l'assorbanza a 253,7 nm, utilizzando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al mercurio ed una fiamma di composizione idonea.

Piombo. Non superiore a 10 ppm, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire 25,0 ml della soluzione S2 a 50,0 ml con una soluzione (100 ml/l) di *acido nitrico Pb R*, contenente 5 g/l di *sodio solfato R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*, diluita con una soluzione (100 ml/l) di *acido nitrico Pb R*, e contenente 5 g/l di *sodio solfato R* in modo da ottenere soluzioni contenenti 0,3 µg, 0,4 µg e 0,5 µg di piombo per millilitro.

Misurare l'assorbanza a 283,3 nm, utilizzando come sorgente di radiazione una lampada a catodo cavo al piombo e una fiamma aria/acetilene.

Grandezza delle particelle (2.9.13). Soddisfa al Saggio limite di grandezza delle particelle mediante microscopia. Il 99 per cento delle particelle ha una dimensione inferiore a 75 µ.

Perdita alla calcinazione. Non superiori all'1,0 per cento, determinata su 2,0 g per calcinazione.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sospendere 1,500 g in 25 ml di *acido cloridrico R* e scaldare a b.m. bollente fino a completa solubilizzazione, Aggiungere 10 ml di *idrogeno perossido soluzione diluita R* ed evaporare a b.m. fino quasi a secco. Riprendere il residuo con 5 ml di *acido cloridrico R*, scaldare fino a completa solubilizzazione, aggiungere 25 ml di *acqua R*. Filtrare e lavare il filtro con *acqua R*. Diluire il filtrato e le acque di lavaggio, riuniti, a 250,0 ml con *acqua R*. Trasferire 50,0 ml di questa soluzione in una beuta con tappo a smeriglio, aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* e 5 ml di *acido cloridrico R*. Chiudere la beuta immediatamente, mescolare e lasciare a riposo per 15 min, al riparo dalla luce. Aggiungere 50 ml di *acqua R* e titolare immediatamente con *sodio tiosolfato 0,1 M*, in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 7,985 mg di ferro(-ico) ossido (Fe_2O_3).

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso.

FINOCCHIO DOLCE ESSENZA

Foeniculi aetheroleum

DEFINIZIONE

L'essenza di finocchio dolce si ottiene per distillazione in corrente di vapore acqueo dai frutti contusi di *Foeniculum vulgare* (var. *dulce* Miller (*F. vulgare* Miller, subsp. *capillaceum* Gilib.)) Miller. Contiene non meno del 50 per cento e non più del 60 per cento di *trans*-anetolo ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$; M_r 148,2).

CARATTERI

Liquido da incolore a giallastro, con odore caratteristico di finocchio; miscibile con carbonio solfuro, cloroformio, etanolo, etere, etere di petrolio, oli grassi e paraffina liquida; solubile nelle soluzioni di sali alcalini di diversi acidi aromatici.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice 60 F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g della sostanza in esame in *alcool R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *anetolo R* in *alcool R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande da 10 mm, 5 μl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 90 volumi di *toluene R* e 10 volumi di *etile acetato R*. Lasciare seccare la lastra all'aria, spruzzare con *acido fosfomolibdico soluzione R1* e scaldare a 100-105 °C per 5-10 min mantenendo la lastra sotto osservazione. Segnare le bande visibili e spruzzare con prudenza la lastra, ancora calda, con una soluzione preparata di recente di 0,5 g di *potassio permanganato R* in 15 ml di *acido solforico R*. Scaldare di nuovo per 5-10 min a 100-105 °C sotto osservazione. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, nel suo terzo superiore, una banda di colore blu intenso corrispondente all'anetolo. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta una banda corrispondente, per posizione e colore, a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Verso la metà del cromatogramma può apparire una banda blu corrispondente all'aldeide anisica e, al di sopra di questa, un'altra banda blu corrispondente al fencone, che però appare solo dopo il trattamento con la soluzione di permanganato. Possono apparire altre bande.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel Profilo cromatografico. I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili, per tempo di ritenzione, ai picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Da 0,961 a 0,972.

Indice di rifrazione (2.2.6). Da 1,528 a 1,548.

Rotazione ottica (2.2.7). Da +11° a -24°.

Punto di solidificazione (2.2.18). Da 5 °C a 10 °C.

Acqua (2.8.5). Soddisfa al saggio Acqua nelle essenze.

Esteri estranei (2.8.6). Soddisfa al saggio Esteri estranei nelle essenze.

Oli grassi ed essenze resinificate (2.8.7). Soddisfa al saggio Oli grassi ed essenze resinificate nelle essenze.

Solubilità delle essenze in alcool (2.8.10). E' solubile in 0,5 volumi di *alcool al 90 per cento V/V R*.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben riempito, ermeticamente chiuso, protetto dalla luce e dal calore.

APPENDICE

Profilo cromatografico. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 15 mg di *fencone R*, 70 mg di *anetolo R* in 1 ml di *esano R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

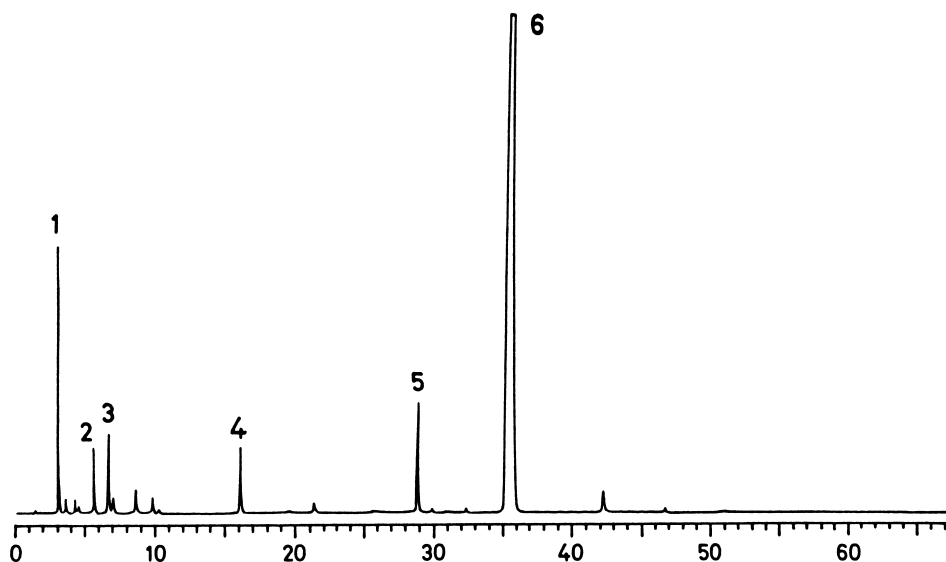
- una colonna capillare di silice fusa lunga 60 m e con diametro interno di circa 0,25 mm, rivestita internamente con uno strato di *macrogol 20000 R* come fase stazionaria,
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- un rapporto di frazionamento 1:100.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 8 min; quindi innalzarla, ad un velocità di 3 °C per minuto, a 180 °C e mantenerla a 180 °C per 5 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella

del rivelatore a 270 °C. Iniettare circa 0,1-0,3 µl della soluzione di riferimento. Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Notare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se il numero di piatti teorici è almeno 30000. Iniettare circa 0,1 µl della soluzione in esame. Usando i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame. Non considerare il picco corrispondente al solvente. Calcolare il contenuto percentuale dei componenti mediante il procedimento di normalizzazione assumendo come unitario il fattore di risposta. A titolo indicativo, le percentuali dei componenti più caratteristici per l'essenza di finocchio dolce, cui si riferisce il cromatogramma riportato in figura, sono le seguenti:

α -Pinene	3,6 per cento
β -Mircene	1,4 per cento
Limonene	2,2 per cento
Fencone	4,6 per cento
Estragolo	3,9 per cento
Anetolo	79,8 per cento

Il cromatogramma tipo è dato per informazione e guida nell'applicazione del metodo analitico. Esso non è parte dei requisiti della monografia.



Cromatogramma tipo dell'essenza di finocchio dolce

1. α -Pinene	3. Limonene	5. Estragolo
2. β -Mircene	4. Fencone	6. Anetolo

Materie Prime

GENZIANA ESTRATTO FLUIDO

Gentianae extractum fluidum

DEFINIZIONE

L'estratto fluido di genziana si ottiene dalla *Genziana radice* (0392).

PREPARAZIONE

L'estratto si prepara dalla droga polverizzata (1000) per trattamento con *alcool al 30 per cento V/V R*, impiegando un metodo appropriato secondo le prescrizioni della monografia *Estratti* (0765) (Estratti fluidi).

Rapporto droga:estratto 1:1.

CARATTERI

Liquido giallo-rossastro, con odore caratteristico; di sapore amaro.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27).

Soluzione in esame. Evaporare 2 ml di estratto fluido a secchezza in condizioni di pressione ridotta e una temperatura non superiore a 50 °C. Riprendere il residuo con 5 ml di *metanolo R* e filtrare se necessario.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *fenazone R* e 20 mg di *amminofenazone R* in 10 ml di *metanolo R*.

Lastra: lastra di gel di silice per cromatografia su strato sottile *F₂₅₄ R*.

Fase mobile: *acqua R*, *diclorometano R*, *acetone R* (2:30:70 V/V/V).

Applicazione: come bande, 30 µl della soluzione in esame e 10 µl della soluzione di riferimento.

Eluizione: per un percorso di 15 cm.

Essiccamento: all'aria.

Rivelazione: esaminare i cromatogrammi alla luce ultravioletta a 254 nm. Marcare la zona corrispondente al fenazone e all'amminofenazone. Spruzzare la lastra con una soluzione (2 g/l) di *rosso solido B sale R* preparata di recente. Lasciare essiccare la lastra all'aria per 10 min. Esporre la lastra a vapori di ammoniacca.

Risultati: vedere di seguito la sequenza delle bande presenti nei cromatogrammi ottenuti con la soluzione di riferimento e con la soluzione in esame. Inoltre sono presenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame altre zone colorate.

Estremità superiore della lastra	
Fenazone: una banda di attenuazione di fluorescenza prima della nebulizzazione Amminofenazone: una banda gialla	Altre bande arancione-rossastre Una banda arancione-rossastra (amarogentina) Altre bande arancione-rosse
Soluzione di riferimento	Soluzione in esame

SAGGI

Contenuto di etanolo e tabelle alcoolimetriche (2.9.10). Tra il 20 per cento V/V e il 25 per cento V/V.

Indice di amarezza (2.8.15). Non inferiore a 1000.

Residuo secco. Vedere la monografia *Estratti* (0765) (Estratti fluidi). Superiore al 25 per cento.

CONSERVAZIONE

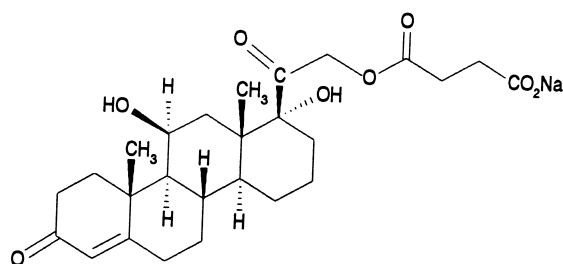
Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

Vedere la monografia *Estratti* (0765) (Estratti fluidi).

IDROCORTISONE SODIO SUCCINATO

Hydrocortisonum natrium succinicum



$C_{26}H_{33}NaO_8$

M_r 484,5

DEFINIZIONE

L'idrocortisone sodio succinato contiene non meno del 97,0 per cento e non più dell'equivalente del 103,0 per cento di 11β,17α-diidrossipregn-4-en-3,20-dione-21-il succinato sodico, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere amorfa bianca o quasi bianca, igroscopica, molto solubile in acqua, moderatamente solubile in alcool, poco solubile in etanolo, molto poco solubile in acetone, praticamente insolubile in cloroformio e in etere.

IDENTIFICAZIONE

Prima identificazione: A, E.

Seconda identificazione: B, C, D.

- A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *idrocortisone sodio succinato SCR*. Esaminare la sostanza come dispersione in pastiche di *potassio bromuro R*.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di gel di silice, con un indicatore di fluorescenza che abbia un'intensità ottimale a 254 nm.

Soluzione in esame. Disciogliere 25 mg in 10,0 ml di una miscela di 9 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di *idrocortisone sodio succinato SCR* in 10,0 ml di una miscela di 9 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *metanolo R*.

Impregnare la lastra ponendola, in maniera tale che peschi per 5 mm nel liquido, in una vasca cromatografica chiusa contenente la quantità necessaria di una miscela di 10 volumi di *formammide R* e 90 volumi di *acetone R*. Quando il fronte del solvente ha percorso 16 cm, prelevare la lastra e lasciar evaporare completamente il solvente a temperatura ambiente. Utilizzare la lastra impregnata entro 2 h, effettuando la cromatografia nella stessa direzione dell'impregnazione. Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 25 volumi di *cloroformio R* e 75 volumi di *toluene R*. Asciugare la lastra all'aria, essiccare in stufa a 100-105 °C per 15 min e spruzzare con *acido solforico soluzione alcoolica R*. Riscaldare in stufa a 100-105 °C per 10 min. Esaminare i cromatogrammi alla luce ultravioletta a 365 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, fluo-

rescenza e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

- C. Disciogliere circa 1 mg in 2 ml di *metanolo R*, aggiungere 8 ml di *fenilidrazina soluzione solforica R*, preparata di recente, e scaldare a circa 70 °C per 15 min. Si sviluppa una colorazione gialla.
- D. Disciogliere 0,1 g circa in 5 ml di *acqua R* ed aggiungere 0,5 ml di *acido cloridrico R*: si forma un precipitato bianco che, lavato ed essiccato, fonde (2.2.16) tra 167 °C e 168 °C.
- E. Dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

SAGGI

Potere rotatorio specifico (2.2.7). Disciogliere 0,250 g in *metanolo R* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente. Il potere rotatorio specifico, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata, è compreso tra +135° e +145°.

Steroidi estranei. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di gel di silice.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,15 g in una miscela di volumi uguali di *cloroformio R* e di *metanolo R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 0,15 g di *idrocortisone sodio succinato SCR* in una miscela di volumi uguali di *cloroformio R* e di *metanolo R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 30 mg di *idrocortisone acetato SCR* in una miscela di volumi uguali di *cloroformio R* e di *metanolo R* e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 75 mg di *idrocortisone SCR* in una miscela di volumi uguali di *cloroformio R* e di *metanolo R* e diluire a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 1,2 volumi di *acqua R*, 8 volumi di *metanolo R*, 15 volumi di *etere R* e 77 volumi di *diclorometano R*. Asciugare la lastra all'aria, essiccare in stufa a 100-105 °C per 10 min, raffreddare e spruzzare con *blu tetrazolio soluzione alcalina R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore alla luce del giorno e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame nessuna eventuale macchia corrispondente per posizione all'idrocortisone, è più intensa della corrispondente macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (c). Nessuna macchia, ad eccezione della macchia principale e di ogni macchia corrispondente all'idrocortisone, è più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (b).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 2,0 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C, ad una pressione non superiore a 700 Pa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,100 g in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml della soluzione ottenuta a 100,0 ml con lo stesso solvente. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo a 248 nm.

Calcolare il contenuto di $C_{26}H_{33}NaO_8$, considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 335.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, protetto dalla luce.

IMPUREZZE

A. Idrocortisone

IPPOCASTANO

Aesculi semen

DEFINIZIONE

L'ippocastano è costituito dal seme disseccato di *Aesculus hippocastanum* L. Contiene non meno del 3,0 per cento di glicosidi triterpenici calcolati come escina anidra ($C_{54}H_{84}O_{23}$; M_r 1101) con riferimento alla droga essiccata.

CARATTERI

È inodore, ha sapore inizialmente dolciastro e poi molto amaro.

Presenta i caratteri macroscopici e microscopici descritti ai saggi di identificazione A e B.

IDENTIFICAZIONE

- A. I semi di dimensioni da 2 a 4 cm circa, globosi-ovali, leggermente appiattiti, sono ricoperti da un tegumento bruno scuro, brillante solo quando freschi, con una macchia (ilo) grossa, rotondeggiante, bruno chiara. Lo spazio al di sotto del tegumento è costituito completamente dall'enorme embrione con cotiledoni grossi debolmente giallastri.
- B. L'epidermide del tegumento del seme è costituito da cellule poligonali, disposte radialmente in sezione, formanti quasi una palizzata a pareti brune. Al di sotto si trovano numerosi strati di cellule sclerenchimatiche con pareti spesse, picchiettate grossolanamente, da giallastre a brunastre e infine un parenchima incolore, con molti spazi intercellulari, costituito da pochi strati di cellule a pareti robuste picchiettate in modo non evidente e pochi vasi anulari e spiralati. Il tessuto dei cotiledoni è costituito da cellule incolori, densamente ripiene di amido e grasso, con pareti sottili. Le gocce di olio si possono evidenziare solo dopo aver disciolto l'amido in *cloralio idrato R*. Il tipico amido è costituito da singoli granuli di 15-25 μm , raramente fino a 30 μm , con parecchi spigoli arrotondati fino a irregolarmente rotondeggianti-ovali, a forma di pera o di rene, spesso con protuberanze di tipo radicolare; numerosi granuli singoli piccoli, rotondeggianti di 5-10 μm circa e pochi granuli di amido riuniti in file da 2 a 4, che secondo la quantità dei singoli granuli, sono lunghi fino a 35 μm , talora fino a 45 μm . Molti granuli di amido presentano una fessura del nucleo da bi- a multiradiale, raramente semplice.

Ridurre in polvere (355). La polvere è grigio-giallastra. Osservata in acqua è caratterizzata da numerosi e tipici granuli di amido piriformi o reniformi da 5 a 25 μm di diametro raggruppati in file da 2 a 4; osservata in cloralio idrato è caratterizzata da numerosissime gocce di grasso di diverse dimensioni, libere e nelle pareti sottili del tessuto incolore dei cotiledoni; frammenti bruno-giallastri del tegumento dei semi con cellule sclerenchimatiche a

pareti robuste, indistintamente picchiettate, incolori e da vasi anulari e spirali isolati provenienti dalle zone interne del tegumento del seme.

- C. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Scaldare a ricadere per 15 min 1,0 g di droga polverizzata (500) con 10 ml di *alcool al 70 per cento V/V R*, raffreddare e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *escina R* in 1,0 ml di *alcool al 70 per cento V/V R*.

Deporre, separatamente sulla lastra, come bande da 20 mm per 3 mm, 20 µl della soluzione in esame e 10 µl della soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 12 cm usando una fase mobile formata dallo strato superiore di una miscela di 10 volumi di *acido acetico glaciale R*, 40 volumi di *acqua R* e 50 volumi di *butanolo R*. Dopo completa eliminazione del solvente per riscaldamento a 100-105 °C, esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm, le bande di minor fluorescenza. Spruzzare con circa 10 ml di *aldeide anisica soluzione R* per una lastra di 200 mm di lato e scaldare per 5-10 min a 100-105 °C. Esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm: nel cromatogramma della soluzione di riferimento, è riconoscibile la banda a minor fluorescenza dell'escina; nel cromatogramma della soluzione in esame è visibile, quasi alla stessa altezza, una banda a minor fluorescenza. Nel cromatogramma della soluzione in esame e in quello della soluzione di riferimento si osserva, alla luce del giorno, la banda dell'escina colorata in blu violetto. Nel cromatogramma della soluzione in esame sono anche visibili una serie di bande più piccole e più deboli di colore dal bruno al rosso brunastro; nella banda di *R_f* inferiore è molto evidente una banda colorata in grigio bruno; poco al di sotto si trova una zona colorata in bruno.

SAGGI

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 10,0 per cento, determinata su 1,00 g di droga polverizzata (355) per essiccamento in stufa a 100-105 °C per 2 h.

Ceneri totali (2.4.16). Non superiori al 4,0 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 1,00 g di droga polverizzata (500) aggiungere, in un pallone tarato da 250 ml, 100,0 ml di *metanolo R* al 65 per cento V/V. Pesare esattamente pallone e

contenuto. Portare all'ebollizione a ricadere per 30 min a b.m. Dopo raffreddamento riportare al peso iniziale con *metanolo R* al 65 per cento V/V e filtrare. Evaporare a secco 30,0 ml di filtrato in un pallone da 100 ml ad una pressione compresa fra 1,5 e 2,5 kPa. Disciogliere il residuo in 20,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, versare in un imbuto separatore da 250 ml e lavare il pallone per 2 volte con 5,0 ml per volta di *acido cloridrico 0,1 M*. Alle soluzioni cloridriche riunite aggiungere 20 ml di *propanolo R* e 50 ml di *cloroformio R* e agitare energicamente per 2 min. Dopo separazione della fase inferiore, alla fase superiore rimasta nell'imbuto separatore aggiungere la fase inferiore di una miscela di 30,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, 20 ml di *propanolo R* e 50 ml di *cloroformio R* e agitare energicamente per 2 min. Evaporare a secco le soluzioni riunite (fase inferiore) in un pallone ad una pressione fra 1,5 e 2,5 kPa. Lavare il residuo per 2 volte con 2 porzioni successive ciascuna da 10 ml di *etere esente da perossidi R*, filtrare la fase eterea e lavare il filtro con 10 ml di *etere esente da perossidi R*. Scartare i filtrati. Dopo evaporazione dell'etere, riprendere il residuo per 3 volte con porzioni successive, ciascuna da 10 ml di *acido acetico anidro R*. Filtrare le soluzioni in un pallone tarato da 50 ml attraverso il filtro già usato, lavare pallone e filtro con poco *acido acetico anidro R*, filtrare le soluzioni di lavaggio nel pallone tarato e diluire i filtrati riuniti a 50,0 ml con *acido acetico anidro R*. Diluire 5,0 ml della soluzione a 25,0 ml con *ferro(-ico) cloruro in acido acetico R* in un pallone tarato da 25 ml, lasciare a b.m. a 60 °C per 25 min agitando di tanto in tanto e raffreddare a temperatura ambiente sotto acqua. Nelle stesse condizioni preparare una soluzione di riferimento con 5,0 ml di *acido acetico anidro R* e *ferro(-ico) cloruro in acido acetico R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo a 540 nm usando la soluzione sopra indicata come bianco.

Calcolare il contenuto in glicosidi triterpenici, calcolati come escina anidra, considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 60.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

MANDARINO ESSENZA

Citri nobilis aetheroleum

DEFINIZIONE

L'essenza di mandarino si ottiene a freddo con procedimenti meccanici appropriati dall'epicarpo del frutto fresco di *Citrus reticulata* Blanco [*Citrus nobilis* Andrews (non Lour.)].

CARATTERI

Liquido mobile, limpido, di colore da arancione chiaro a rosso-bruno, con odore caratteristico del frutto fresco.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando gel di silice GF₂₅₄ R come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,10 ml della sostanza in esame in 1 ml di alcool R.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 µl di *N*-metil antranilato di metile, 10 µl di linalolo R, 20 µl di linalile acetato R e 2 mg di bergaptene R in alcool R e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande da 20 mm × 3 mm, 20 µl della soluzione in esame e 10 µl della soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 85 volumi di toluene R e 15 volumi di etile acetato R. Lasciare seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, nella zona mediana, una banda a fluorescenza blu-violetta dovuta all'*N*-metil antranilato di metile. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta la banda corrispondente all'*N*-metil antranilato di metile di assai lieve intensità. Altre bande possono apparire, tra cui, nel terzo inferiore, una banda a fluorescenza rossa (biakangelicina). Spruzzare la lastra con aldeide anisica soluzione R e scaldare per 10 min a 100-105 °C. Esaminare la lastra ancora calda alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta nella zona mediana, la banda

dell'*N*-metil antranilato di metile a fluorescenza verde giallastra, due bande a fluorescenza arancio-bruno: una corrispondente al linalolo, al di sotto di quella dell'*N*-metil antranilato di metile, e l'altra corrispondente all'acetato di linalile, poco al di sopra. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta le bande corrispondenti rispettivamente a quelle dell'acetato di linalile, dell'*N*-metil antranilato di metile e del linalolo della soluzione di riferimento. Altre bande possono apparire.

- B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio Profilo cromatografico. I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili per tempo di ritenzione ai picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Da 0,848 a 0,854.

Indice di rifrazione (2.2.6). Da 1,474 a 1,478.

Rotazione ottica (2.2.7). Da +64° a +75°.

Profilo cromatografico. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 µl di *α*-pinene R, 10 µl di *β*-pinene R, 10 µl di *β*-mircene R, 700 µl di limonene R, 200 µl di *γ*-terpinene R, 10 µl di terpinolene R, 10 µl di linalolo R, 10 µl di citronellale R, 10 µl di *α*-terpineolo R, 10 µl di decanale R, 10 µl di citrale R in 10 ml di esano R.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 60 m e con diametro interno di circa 0,25 mm, rivestita internamente con uno strato di poli[metil(95)fenil(5)]silossano R come fase stazionaria,
- elio per cromatografia R come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- un rapporto di frazionamento 1:100.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 8 min; quindi innalzarla, ad una velocità di 3 °C per minuto a 180 °C e mantenerla a 180 °C per 5 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 270 °C. Iniettare circa 0,1-0,3 µl della

soluzione di riferimento. Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Notare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se il numero di piatti teorici è almeno 30000. Iniettare circa 0,1 µl della sostanza in esame. Usando i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento, individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame. Non considerare il picco corrispondente al solvente. Calcolare il contenuto percentuale di ciascuno dei componenti mediante il procedimento di normalizzazione, assumendo come unitario il fattore di risposta. Le percentuali dei componenti più caratteristici, per l'essenza di bergamotto tipo Italia, cui si riferisce il cromatogramma riportato in figura, sono situate entro i seguenti intervalli:

α-Pinene	da 2,0 a 3,0 per cento
β-Pinene	da 1,2 a 2,0 per cento
β-Mircene	da 1,5 a 2,0 per cento
Limonene	da 65,0 a 75,0 per cento

γ-Terpinene	da 16,0 a 22,0 per cento
Terpinolene	meno di 1,0 per cento
Linalolo	da 0,1 a 0,2 per cento
Citronellale	meno dello 1,0 per cento
α-Terpineolo	da 0,1 a 0,2 per cento
Decanale	meno dello 0,1 per cento
Geraniale	meno dello 0,1 per cento

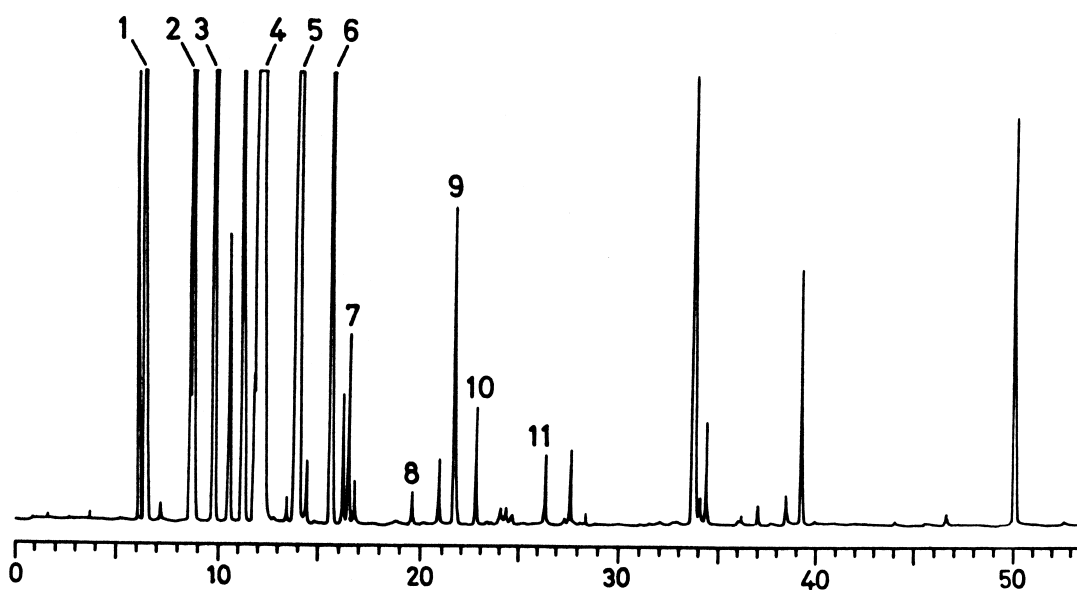
CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben riempito, ermeticamente chiuso, protetto dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica se l'essenza di mandarino è di tipo Italia.

Il cromatogramma tipo è dato per informazione e guida nell'applicazione del metodo analitico. Esso non è parte dei requisiti della monografia.

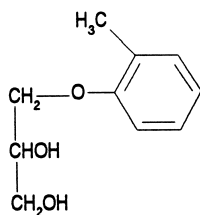


Cromatogramma tipo dell'essenza di mandarino

- | | | |
|-------------|-----------------|-----------------|
| 1. α-Pinene | 5. γ-Terpinene | 9. α-Terpineolo |
| 2. β-Pinene | 6. Terpinolene | 10. Decanale |
| 3. Mircene | 7. Linalolo | 11. Geraniale |
| 4. Limonene | 8. Citronellale | |

MEFENESINA

Mephenesinum



$C_{10}H_{14}O_3$

M_r 182,2

DEFINIZIONE

La mefenesina contiene non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di 3-(2-metilfenossi)-1,2-propandiolo, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, poco solubile in acqua, molto solubile in alcool, in cloroformio e in etere.

IDENTIFICAZIONE

- Punto di fusione (2.2.14): da 70 °C a 73 °C.
- La soluzione acquosa mostra un massimo di assorbimento a 270 nm (2.2.25). Il valore dell'assorbanza specifica è di circa 81.
- Disciogliere 10 mg in 1 ml di *acido solforico R*: si ottiene una colorazione rossa che, per aggiunta di *formaldeide soluzione R* diluita 1:10, vira al rosso intenso.

SAGGI

Aspetto della soluzione. La soluzione acquosa 10 g/l è limpida (2.2.1) ed incolore o leggermente giallastra.

pH (2.2.3). Il pH della soluzione acquosa saturata è di circa 6,0.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,5 per cento, determinata su 1,00 g per essiccamento in stufa a 80 °C ad una pressione non superiore a 670 Pa.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 0,5 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In beuta con tappo a smeriglio disciogliere 0,150 g in 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 25 ml di *potassio bromato 0,1 M* e 10 g di *potassio bromuro R* in polvere. Dopo completa dissoluzione, aggiungere 10 ml di *acido cloridrico R*, tappare la beuta e, dopo 10 s, aggiungere 10 ml di *potassio ioduro soluzione R*. Titolare l'eccesso di iodio con *sodio tiosolfato 0,1 M* in presenza di *amido soluzione R* come indicatore.

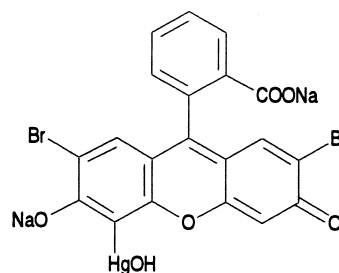
1 ml di *potassio bromato 0,1 M* equivale a 9,11 mg di $C_{10}H_{14}O_3$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso.

MERBROMINA

Merbrominum



$C_{20}H_8Br_2HgNa_2O_6$

M_r 750,70

DEFINIZIONE

La merbromina è una miscela di derivati della mercurio-bromofluoresceina nella quale predomina il sale disodico del [2,7-dibromo-9-(2-carbossifenil)-3-idrossi-6-oxo-6*H*-xanten-4-il]idrossi-mercurio; contiene non meno del 24,0 per cento e non più del 27,0 per cento di mercurio (Hg; A_r 200,6), non meno del 17,0 per cento e non più del 21,3 per cento di bromo (Br; A_r 79,9), calcolati con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Scaglie o granuli verdastri, iridescenti, molto solubili in acqua, molto poco solubili in alcool, praticamente insolubili in cloroformio e in etere.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione acquosa è di colore rosso, per forte diluizione presenta una fluorescenza giallo-verde.
- B. Disciogliere 0,1 g in 10 ml di *acqua R* e aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R*: si ottiene un precipitato rosso-arancione.
- C. Disciogliere 0,5 g in 20 ml di *acqua R*, aggiungere 5 g di *potassio idrossido R* e 1 g di *zinco polvere R*. Riscaldare per 5 min. Filtrare il residuo e lavare con *acqua R*: per riscaldamento si ottiene un sublimato di mercurio metallico.
- D. Calcinare 0,2 g per 5 min con 1 g di *sodio carbonato anidro R*. Il residuo dà le reazioni caratteristiche (2.3.1) dei bromuri.
- E. Calcinare 0,5 g con 4-5 gocce di *acido solforico R*. Raffreddare, aggiungere 4-5 gocce di *acido solforico R* e calcinare di nuovo. Il residuo dà le reazioni caratteristiche (2.3.1) del sodio.

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere 1,0 g in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Il pH della soluzione è compreso tra 8,8 e 10,2.

Mercurio. Agitare 2 g con 50 ml di *acqua R* e centrifugare. Lavare il residuo con porzioni successive, di 30 ml ciascuna, di *acqua R* fino a quando le acque di lavaggio sono incolore. Disciogliere il precipitato con 2 ml di *acido nitrico R*, scaldando dolcemente. Aggiungere 25 ml di *acqua R*, 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R1* e titolare con *ammonio tiocianato 0,02 M*. Non è necessario più di 1,0 ml di *ammonio tiocianato 0,02 M* per far virare al rosa l'indicatore.

Sali di mercurio solubili. Disciogliere 0,2 g in 20 ml di *acqua R*, aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R*, lasciare a riposo per 5 min e filtrare. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento disciogliendo 2 mg di *mercurio(-ico) cloruro R* in 100 ml di *acqua R* e filtrare. A 10 ml di filtrato di ciascuna

soluzione aggiungere qualche goccia di *acido solfidrico soluzione R*: le due soluzioni hanno la stessa intensità di colorazione.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 7,0 per cento, determinata su 1,0 g per essiccamento in stufa a 130 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mercurio. Introdurre in una beuta 1,0 g della sostanza in esame e far bollire a ricadere per 30 min con 1,5 g di *zinco polvere R*, 5 g di *potassio idrossido R* e 20 ml di *acqua R*. Raffreddare, aggiungere 20 ml di *acqua R* attraverso il refrigerante e lasciare a riposo per far depositare l'amalgama. Eliminare la soluzione soprannatante per filtrazione. Lavare il residuo con quattro porzioni successive, di 15 ml ciascuna, di *acqua R* e filtrare ogni volta. Scartare il filtrato e le acque di lavaggio e lavare il refrigerante con 6 ml di *acido nitrico fumante R*, trasferendolo nella beuta che contiene l'amalgama. Scaldare fino a dissoluzione completa. Disciogliere il residuo sul filtro con 4 ml di *acido nitrico fumante R* e unire alla soluzione contenuta nella beuta. Lavare il refrigerante, la beuta e il filtro con 80 ml di *acqua R*. Riunire le acque di lavaggio alla soluzione contenuta nella beuta ed aggiungere alcune gocce di una soluzione (10 g/l) di *potassio permanganato R* fino a debole colorazione rosa persistente. Raffreddare a 15 °C, aggiungere alcuni cristalli di *ferro(-oso) solfato R* e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* usando come indicatore *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R1*. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *ammonio tiocianato 0,1 M* equivale a 10,03 mg di Hg.

Bromo. Mescolare 0,3 g della sostanza in esame, in una capsula di porcellana, con 1 g di *potassio nitrato R*, 2 g di *potassio carbonato R* e 2 g di una miscela in parti uguali di *sodio carbonato anidro R* e *potassio carbonato anidro R* e scaldare a piccola fiamma per 20 min fino a quando la miscela comincia a liquefare, quindi aumentare il calore e portare a fusione. Raffreddare, disciogliere la massa fusa con *acqua R* calda e trasferire la soluzione ottenuta in una beuta. Acidificare lentamente con 10 ml di *acido nitrico fumante R*, aggiungere 20 ml di *argento nitrato 0,1 M* e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* usando come indicatore *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R1*. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 7,99 mg di Br.

Sodio. Trattare 0,5 g con alcune gocce di *acido solforico R* e calcinare. Raffreddare, aggiungere 5-6 gocce di *acido solforico R*, calcinare nuovamente fino a colorazione bianca del residuo e raffreddare. Pesare il residuo come sodio solfato (Na_2SO_4).

1 g di residuo equivale a 323,7 mg di Na.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

MERCURIO OSSIDO GIALLO

Hydrargyrum oxydatum flavum

HgO

M_r 216,6

DEFINIZIONE

Il mercurio ossido giallo contiene non meno del 99,3 per cento di HgO, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere amorfa giallo-arancio, pesante, finemente divisa, stabile all'esposizione all'aria, praticamente insolubile in acqua e in alcool, solubile in acido cloridrico e in acido nitrico diluito.

IDENTIFICAZIONE

- Vira al rosso se scaldata leggermente; se calcinata si decompone in mercurio e in ossigeno.
- La soluzione S (vedi Saggi) dà le reazioni caratteristiche dei sali mercurici (2.3.1).
- Aggiungere 0,5 g in 10 ml di *acqua R* contenente 1 ml di *ammoniaca diluita R2* e 1 g di *acido ossalico R* e scaldare a b.m. per 2 h, reintegrando l'acqua che evapora; il mercurio ossido giallo si trasforma in ossalato di mercurio bianco o bianco-giallastro.

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 0,5 g in 25 ml di *acido cloridrico diluito R*.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida o, al massimo, leggermente opalescente (2.2.1).

Acidità o alcalinità. Aggiungere 1,0 g a 5 ml di *acqua R*, mescolare per 2 min, filtrare ed aggiungere due gocce di *fenoltaleina soluzione R*. La soluzione è incolore. Aggiungere 0,5 ml di *sodio idrossido 0,01 M*. La soluzione vira al rosso.

Sali alcalini. Mescolare 1,0 g con 10 ml di *acqua R*, filtrare ed evaporare la soluzione filtrata. Il residuo non è superiore ad 1 mg (0,1 per cento).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,5 per cento, determinata su 1,00 g mediante essiccamento in stufa a 100-105 °C per 1 h.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,2 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere circa 0,4 g in 5 ml di *acido nitrico diluito R* e 10 ml di *acqua R*. Diluire la soluzione a 150,0 ml con *acqua R* e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* ad una temperatura non superiore a 15 °C, in presenza di *ferro(-ico) ammonico solfato R*.

1 ml di *ammonio tiocianato 0,1 M* equivale a 10,83 mg di HgO.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

NIAOULI ESSENZA

Melaleucaea aetheroleum

DEFINIZIONE

L'essenza di niaouli si ottiene per distillazione in corrente di vapore dalle foglie di *Melaleuca viridiflora* Gaertn. Contiene non meno del 50,0 per cento di 1,8-cineolo ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$; M_r 154,24).

CARATTERI

Liquido incolore o di colore giallo-citrino, con odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g della sostanza in esame in *toluene R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 30 μl di *1,8-cineolo R*, 30 μl di *4-terpinenolo R* e 10 μl di *α -terpineolo R* in *toluene R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande, 2 μl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 80 volumi di *eptano R* e 20 volumi di *etile acetato R*. Lasciare seccare la lastra per alcuni minuti all'aria, spruzzare con *aldeide anisica soluzione R*, scaldare per 10 min a 100-105 °C ed esaminare alla luce del giorno. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, in ordine crescente di R_f , una banda blu-viola (*α -terpineolo*), una banda blu (*4-terpinenolo*) e una banda viola-bruno (*1,8-cineolo*). Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta delle bande corrispondenti, per colore ed osservate a luce ultravioletta a 365 nm, alle bande ottenute con la soluzione di riferimento. Nel terzo inferiore, appaiono altre bande con R_f gradatamente crescente e di colore rispettivamente più o meno grigio-rosa e lilla-brunastro con fluorescenza lilla alla luce ultravioletta a 365 nm. Le seguenti bande, entrambi con R_f maggiore rispetto a quello dell'*1,8-cineolo*, una di colore lilla alla luce diurna, con fluorescenza rosa o aranciata alla luce ultravioletta a 365 nm, dovuta all'*eposicariofillene*, e l'altra brunastro, con fluorescenza grigio-giallastro-azzurrognola alla luce ultravioletta a 365 nm dovuta all'*acetato di terpenile*, sono caratteristiche dell'olio di cajeput.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel Profilo cromatografico. I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili per tempo di ritenzione ai picchi del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Da 0,906 a 0,929.

Indice di rifrazione (2.2.6). Da 1,465 a 1,472.

Rotazione ottica (2.2.7). Da + 1° a - 3,6°.

Profilo cromatografico. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 μl di *α -pinene R*, 5 μl di *β -pinene R*, 5 μl di *sabinene R*, 5 μl di *α -terpinene R*, 10 μl di *limonene R*, 50 μl di *1,8-cineolo R*, 5 μl di *γ -terpinene R*, 5 μl di *p -cimene R*, 5 μl di *terpinolene R*, 5 μl di *4-terpinenolo R*, 10 μl di *α -terpineolo R*, in 10 ml di *acetone R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 60 m e con diametro interno di circa 0,25 mm, rivestita internamente con uno strato di *macrogol 20000 R* come fase stazionaria,
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- un rapporto di frazionamento 1:100.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 8 min; quindi innalzarla, ad una velocità di 3 °C per minuto a 180 °C e mantenerla a 180 °C per 5 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 270 °C. Iniettare circa 0,1-0,3 μl della soluzione di riferimento. Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Notare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se il numero di piatti teorici è almeno 30000. Iniettare circa 0,1 μl della sostanza in esame. Usando i tempi di ritenzione determinati con il cro-

Niaouli essenza

matogramma ottenuto con la soluzione di riferimento, individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame. Non considerare il picco corrispondente al solvente. Calcolare il contenuto percentuale dei componenti mediante il procedimento di normalizzazione assumendo come unitario il fattore di risposta. A titolo indicativo, le percentuali dei componenti più caratteristici per l'essenza di niaouli, cui si riferisce il cromatogramma, sono le seguenti:

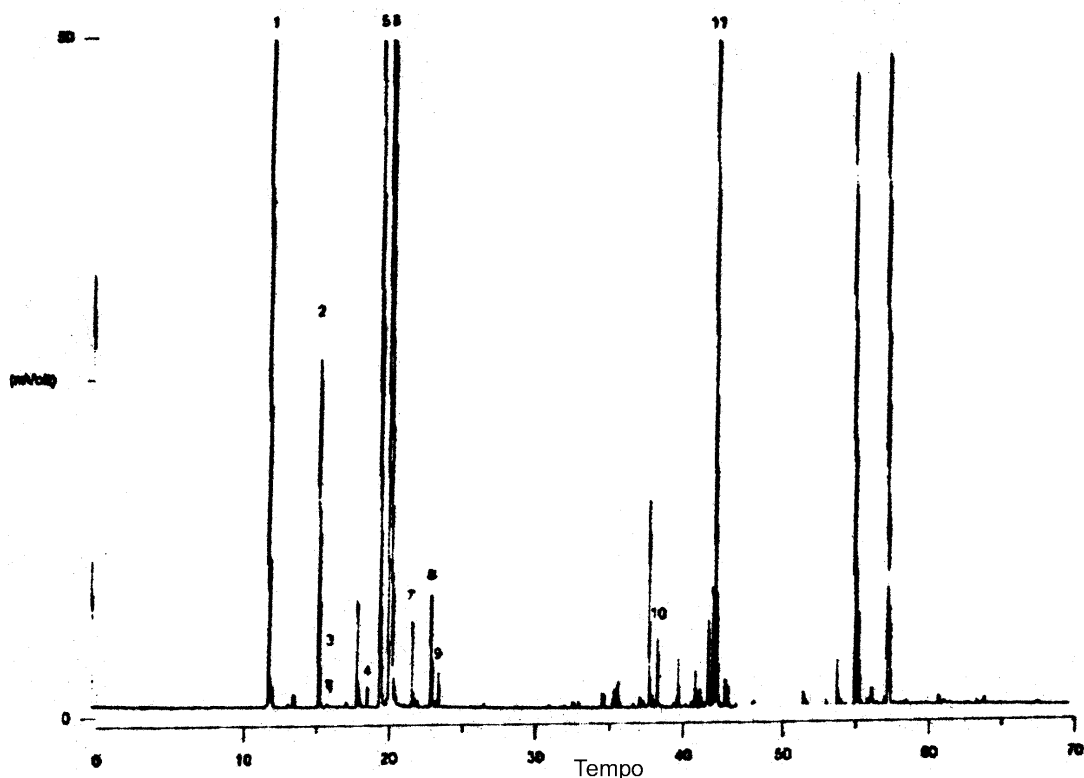
α -Pinene	4,0 per cento
β -Pinene	2,5 per cento
Sabinene	non più dello 0,020 per cento
α -Terpinene	non più dello 0,2 per cento
Limonene	8,0 per cento
1,8-Cineolo	non meno del 50,0 per cento

γ -Terpinene	non più dello 0,60 per cento
<i>p</i> -Cimene	non più dello 0,80 per cento
Terpinolene	non più dello 0,2 per cento
4-Terpinenolo	non più dello 0,54 per cento
α -Terpineolo	6,42 per cento

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente di vetro ben riempito, ermeticamente chiuso, protetto dalla luce e dal calore.

Il cromatogramma tipo è dato per informazione e guida nell'applicazione del metodo analitico. Esso non è parte dei requisiti della monografia.

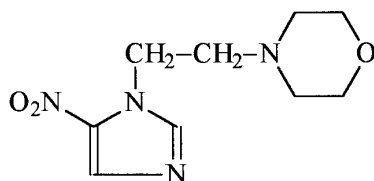


Cromatogramma tipo dell'essenza di niaouli

- | | | |
|------------------------|------------------------|--------------------------|
| 1. α -Pinene | 5. Limonene | 9. Terpinolene |
| 2. β -Pinene | 6. 1,8-cineolo | 10. 4-Terpinenolo |
| 3. Sabinene | 7. γ -Terpinene | 11. α -Terpineolo |
| 4. α -Terpinene | 8. <i>p</i> -Cimene | |

NIMORAZOLO

Nimorazololum

 $C_9H_{14}N_4O_3$ M_r 226,24

DEFINIZIONE

Il nimorazolo contiene non meno del 98,0 per cento e non più dell'equivalente del 102,0 per cento di 4-[2-(5-nitroimidazol-1-il)etil]-morfolina, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina gialla, molto solubile in diclorometano, solubile in alcool, in metanolo e in acetone, moderatamente solubile in acqua.

IDENTIFICAZIONE

Prima identificazione: A

Seconda identificazione: B, C.

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *nimorazolo SCR*.
- Punto di fusione (2.2.14): da 109 °C a 112 °C.
- Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,2 g della sostanza da esaminare in una miscela di eguali volumi di *diclorometano R* e *metanolo R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 0,2 g di *nimorazolo SCR* in una miscela di eguali volumi di *diclorometano R* e *metanolo R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 0,5 ml della soluzione di riferimento (a) a 100 ml con una miscela di eguali volumi di *diclorometano R* e *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 20 mg di *4-[2-(4-nitroimidazol-1-il)etil]-morfolina SCR* in una miscela di eguali volumi di *diclorometano R* e *metanolo R* e diluire a 100 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm, con *acetone R*. Essiccare la lastra in corrente d'aria e spruzzarla con una miscela di 5 volumi di *titanio cloruro soluzione R*, 5 volumi di *acido cloridrico R* e 95 volumi di *alcool R*. Essiccare la lastra in corrente d'aria calda e quindi introdurla in essiccatore contenente alcuni grammi di *sodio nitrito R* e poche gocce di *acido cloridrico R*. Dopo almeno 5 min estrarre la lastra dall'essiccatore e spruzzarla prima con una soluzione (50 g/l) di *acido sulfammico R* in miscela di eguali volumi di *alcool R* e *acqua R* e poi con soluzione (2 g/l) di *naftiletildiammina dicloridrato R* in miscela di 95 volumi di *butanolo R* e 5 volumi di *acido cloridrico 2 M*.

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, un'eventuale macchia corrispondente alla 4-[2-(4-nitroimidazol-1-il)etil]-morfolina non è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (c) (1 per cento); nessuna macchia, ad eccezione della macchia principale e la eventuale macchia corrispondente alla 4-[2-(4-nitroimidazol-1-il)etil]-morfolina, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (0,5 per cento).

Cloruri (2.4.4). Mescolare 1,0 g con circa 1,4 g di *calcio carbonato R* ed inumidire con pochi millilitri di *acqua R*. Bruciare riscaldando lentamente fino ad una temperatura che non superi i 600 °C. Mantenere a questa temperatura per circa 10 min e quindi raffreddare. Riprendere il residuo con 20 ml di *acido nitrico 2 M*, filtrare e lavare con una quantità di *acqua R* sufficiente a portare il volume del filtrato a 30 ml. 15 ml della soluzione soddisfano il saggio limite per i cloruri (100 ppm).

Acqua (2.5.12). Non più del 2,0 per cento, determinata su 1,00 g mediante il metodo semimicro.

Nitroglicerina

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

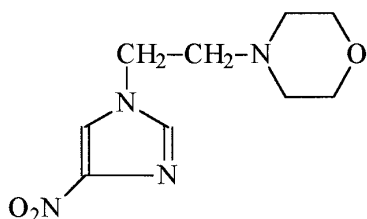
Disciogliere 0,150 g in 70 ml di *acido acetico anidro R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* è equivalente a 22,62 mg di $C_9H_{14}N_4O_3$.

CONSERVAZIONE

Conservare in recipiente ben chiuso, protetto dalla luce e dall'umidità.

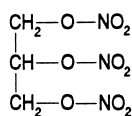
IMPUREZZE



A. 4-[2-(4-Nitroimidazol-1-il)etil]-morfolina

NITROGLICERINA

Nitroglycerinum



$C_3H_5N_3O_9$

M_r 227,9

DEFINIZIONE

La nitroglicerina contiene non meno dello 0,9 per cento e non più dell'equivalente dell'1,1 per cento di propan-1,2,3-triolo trinitrato, supportato su lattosio.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca, molto solubile in acqua, solubile in acetone, in alcool, in etanolo e in etere.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare il cromatogramma ottenuto nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).
- B. Agitare 0,5 g con 10 ml di *etere R* e filtrare. Evaporare a secco il filtrato e disciogliere il residuo in poche gocce di una soluzione (10 g/l) di *difenilammina R* in *acido solforico R*: si sviluppa una colorazione blu.
- C. Agitare 0,5 g con 10 ml di *etere R* e filtrare. Disciogliere il precipitato in 50 ml di *acqua R*. Aggiungere a 5 ml di soluzione 2 ml di *cupri-tartarica soluzione R* e scaldare all'ebollizione. Si ottiene un precipitato rosso.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di *gel di silice G R*.

Soluzione in esame. Agitare 10,0 g con 20 ml di *etere R*. Filtrare e lavare il residuo con due porzioni successive, ciascuna di 5 ml, di *etere R*. Evaporare a secco il filtrato e diluire a 5,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1,0 ml della soluzione in esame a 100,0 ml con *etere R*.

Soluzione di riferimento (b). Preparare una soluzione (20 g/l) di *nitroglicerina SCR* in *etere R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 14 cm usando una miscela di 20 volumi di *etile acetato R* e 80 volumi di *toluene R*. Essiccare la lastra all'aria e spruzzare con una soluzione (10 g/l) di *difenilammina R* in *metanolo R*. Esporre la lastra per 15 min alla luce ultravioletta a 254 nm e a 366 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Nitrati inorganici. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare 2,5 g con 10 ml di *alcool R*, filtrare e lavare il residuo con due porzioni successive, di 2 ml ciascuna, di *alcool R*. Evaporare a secco il filtrato e riprendere il residuo ottenuto con *alcool al 90 per cento R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di *potassio nitrato R* in *alcool al 90 per cento R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire con una fase mobile di 60 volumi di *toluene R*, 30 volumi di *acetone R* e 15 volumi di *acido acetico glaciale R*. Asciugare la lastra all'aria e spruzzare una soluzione (10 g/l) di *difenilammina R* in *metanolo R*. Esaminare la lastra alla luce ultravioletta a 254 nm e a 366 nm. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame un'eventuale macchia secondaria corrispondente al nitrato di potassio non è più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre 3,0 g in una beuta con tappo a smeriglio da 100 ml ed aggiungere 50,0 ml di *acido acetico R* (900 ml/l). Agitare per circa 5 min e filtrarne circa 20 ml (soluzione A). In un pallone tarato da 100 ml disciogliere 80,0 mg di *potassio nitrato R*, previamente seccato in stufa a 105 °C, in 10 ml di *acqua R*, diluire con 100 ml con *acido acetico glaciale R* ed agitare (soluzione B). In tre palloni tarati da 100 ml introdurre, rispettivamente 1 ml di soluzione A, 1 ml di soluzione B ed 1 ml di *acido acetico R* (900 ml/l). A ciascun pallone aggiungere 2 ml di *acido fenoldisolfonico R* e lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere 50 ml di *acqua R*, alcalinizzare con 10 ml di *ammoniaca R*, raffreddare a temperatura ambiente, portare a volume con *acqua R* ed agitare. Misurare l'assorbanza delle soluzioni A e B al massimo di assorbimento a 408 nm, utilizzando come bianco la soluzione ottenuta con *acido acetico R* (900 ml/l).

Calcolare il titolo in $C_{17}H_{32}BrNO_2$ mediante l'espressione:

$$\frac{A_c \times 3}{A_r \times m}$$

A_c = assorbanza del campione,

A_r = assorbanza del riferimento,

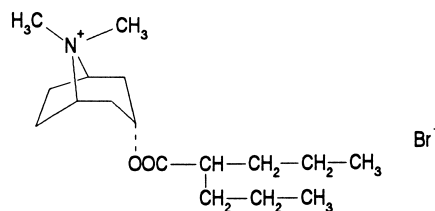
m = massa del campione.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce, ad una temperatura non superiore a 15 °C.

OCTATROPINA METILBROMURO

Octatropinum methylbromidum



$C_{17}H_{32}BrNO_2$

M_r 362,4

DEFINIZIONE

L'octatropina metilbromuro contiene non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di (1*R*,3*r*,5*S*)-8,8-dimetil-3-(2-propil-pentanoilossi)-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano bromuro, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, igroscopica, solubile in acqua e in alcool, moderatamente solubile in acetone, insolubile in etere.

IDENTIFICAZIONE

Prima identificazione: A.

Seconda identificazione: B, C.

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *octatropina metilbromuro SCR*. Esaminare la sostanza come dispersione in pastiche di *potassio bromuro R*.
- Esaminare il cromatogramma ottenuto nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a) è simile, per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).
- La soluzione acquosa dà le reazioni caratteristiche (2.3.1) dei bromuri.

Pentetrazolo

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere 100,0 mg in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice 60 R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,2 g della sostanza in esame in *etanolo R* e diluire a 5 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 0,2 g di *octatropina metilbromuro SCR* in *etanolo R* e diluire a 5 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 0,5 ml della soluzione di riferimento (a) a 100 ml con *etanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 20 volumi di *acetone R*, 20 volumi di *acido formico R* e 60 volumi di *cloroformio R*. Seccare la lastra in una corrente di aria calda per 20 min ed esporla ai vapori di *iodio R* per 30 min. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame nessuna eventuale macchia, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) e la somma delle intensità di tutte le macchie secondarie, ottenute con la soluzione in esame, non è superiore a tre volte l'intensità della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

Metalli pesanti (2.4.8). 1,0 g soddisfa al saggio limite C per i metalli pesanti (10 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando 1 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,1 per cento, determinata su 1,0 g per essiccamento sotto vuoto a 105 °C, per 3 h, ad una pressione non superiore a 670 Pa.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,300 g in 50 ml di *acido acetico anidro R*, aggiungere 10 ml di *mercurio(-ico) acetato soluzione R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 36,24 mg di $C_{17}H_{32}BrNO_2$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

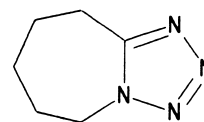
IMPUREZZE

A. Tropina metilbromuro

B. Octatropina base

PENTETRAZOLO

Pentetrazolum



$C_6H_{10}N_4$

M_r 138,2

DEFINIZIONE

Il pentetrazolo contiene non meno del 99,0 per cento di 6,7,8,9-tetraidro-5H-tetrazoloazepina, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o cristalli incolori, solubilissimi in acqua, in alcool e in cloroformio, solubili in etere.

IDENTIFICAZIONE

A. A 2 ml della soluzione S (vedi Saggi) aggiungere 2 ml di *cloroformio R*, 5 gocce di *acido solforico diluito R*, 3 gocce di una soluzione (50 g/l) di *potassio dicromato R* e 3 gocce di *idrogeno perossido soluzione diluita R*. Lo strato cloroformico è blu-violetto.

- B. A 2 ml della soluzione S aggiungere 5 ml di *mercurio(-ico) cloruro soluzione R*. Si ottiene un precipitato cristallino bianco. Lavare il precipitato con *acqua R* fredda ed essiccare in stufa a 100-105 °C. Il punto di fusione (2.2.14) è di circa 178 °C.

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 2,5 g in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II*, 2.2.2).

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 5,5 e 7,0.

Punto di fusione (2.2.14). Da 57 °C a 60 °C.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,5 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento in un essiccatore.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,100 g in 25 ml di *acqua R* ed aggiungere agitando, in porzioni di 5 ml, 25 ml di *rame(-oso) cloruro soluzione R*. Raffreddare con ghiaccio e lasciare a riposo per 10 min. Filtrare su filtro di vetro poroso (40) e lavare il precipitato con sei porzioni, ciascuna di 5 ml, di una soluzione (10 g/l) di *acido acetico R*. Scartare il filtrato e le acque di lavaggio. Disciogliere il precipitato in sei porzioni, ciascuna di 5 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R4* a 60 °C, agitando con una bacchetta di vetro dopo ogni aggiunta. Lavare il filtro con 50 ml di *acqua R*. Riunire il filtrato e le acque di lavaggio. Titolare con *potassio permanganato 0,1 M*.

1 ml di *potassio permanganato 0,1 M* equivale a 7,892 mg di $C_6H_{10}N_4$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

POTASSIO IODATO

Kalium iodatum

KIO_3

M_r 213,9

DEFINIZIONE

Contiene non meno del 99,8 per cento di potassio iodato, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca, solubile in acqua.

IDENTIFICAZIONE

- A. Disciogliere 0,250 g in *acqua R* e diluire a 10 ml. Acidificare la soluzione con *acido cloridrico R*. Far cadere una goccia della soluzione acidificata su *amido iodata cartina R*, nello stesso punto nel quale precedentemente è stata posta una goccia di *potassio tiocianato soluzione R*: si sviluppa una colorazione blu.
- B. Dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).

SAGGI

Acidità o alcalinità. La soluzione (50 g/l) è neutra alla *tornasole cartina R*.

Clorati. A 2,0 g aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Il sale rimane bianco e non si sviluppa odore o gas.

Ioduri. Disciogliere 1,0 g in 20 ml di *acqua R* ed aggiungere 1 ml di *acido solforico 0,05 M*, 2 ml di *cloroformio R* e agitare energicamente. Nello strato cloroformico non appare alcuna colorazione violetta.

Solfati (2.4.13). Disciogliere 1,0 g in 25 ml di *acqua R* ed aggiungere 10 ml di *acido cloridrico R*. Scaldare fino ad ebollizione, aggiungere 1 ml di *bario cloruro soluzione R1* e lasciare a riposo per 10 min: non si produce alcun precipitato o intorbidamento.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,1 per cento, determinata su 2,00 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere circa 1,5 g in *acqua R* e diluire a 250 ml. A 25 ml della soluzione aggiungere 3 g di *potassio*

Pralidossima metilsolfato

ioduro R, 100 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* in presenza di *amido soluzione R*.

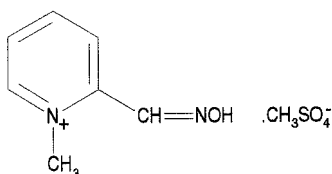
1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 3,567 mg di KIO_3 .

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

PRALIDOSSIMA METILSOLFATO

Pralidoximum methylsulfuricum



$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$

M_r 248,3

DEFINIZIONE

La pralidossima metilsolfato contiene non meno del 97,0 per cento e non più dell'equivalente del 103,0 per cento del metilsolfato dell'ossima del 2-formil-1-metilpiridinio, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca, solubilissima in acqua, molto poco solubile in metanolo, poco solubile in cloroformio. E' incompatibile con gli acidi e con gli idrossidi alcalini.

IDENTIFICAZIONE

- Punto di fusione (2.2.14): da 110 °C a 112 °C.
- La soluzione in *metanolo R*, esaminata mediante spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto (2.2.25), mostra due massimi di assorbimento, rispettivamente a 247 nm e a 300 nm. L'assorbanza specifica a quest'ultimo massimo è di circa 546. La soluzione acquosa mostra due massimi di assorbimento, rispettivamente a circa 245 nm e a circa 293 nm.

- Disciogliere 1,0 g in 4 ml di *acqua R*, aggiungere 2 ml di *acido cloridrico R* e mantenere la soluzione all'ebollizione a ricadere per 30 min. Aggiungere ad 1 ml della soluzione raffreddata a 0 °C, 1 ml di una soluzione fredda (10 g/l) di *sodio nitrito R*: per agitazione si ha sviluppo gassoso (azoto).
- Ad 1 ml della soluzione, preparata come descritto nella reazione di identificazione C, aggiungere 0,3 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 1 ml di *fucsina decolorata soluzione R*: si sviluppa una colorazione rosa più intensa di quella ottenuta con una soluzione di riferimento preparata con 1 ml di *acido cloridrico diluito R* e trattata nello stesso modo.
- La soluzione ottenuta come descritto alla reazione di identificazione (c), dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 5,0 g in *acqua R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolore o leggermente giallastra.

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S, diluita 1 a 5 con *acqua R*, è compreso tra 3,0 e 5,0.

Metalli pesanti (2.4.8). 12 ml della soluzione S soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (20 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore all'1,0 per cento per essiccamento in stufa sotto vuoto a 80 °C.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,05 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere una quantità, esattamente pesata, in *metanolo R* in modo da ottenere una soluzione contenente circa 6,0 µg per millilitro. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di 300 nm. Calcolare il contenuto di pralidossima metilsolfato ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$) considerando che il valore della assorbanza specifica è di 546.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

RABARBARO ESTRATTO FLUIDO

hei extractum fluidum

DEFINIZIONE

L'estratto fluido di rabarbaro si ottiene dal *Rabarbaro* (0291). Contiene non meno del 2,2 per cento di derivati idrossiantraceni, espressi come reina ($C_{15}H_8O_6$; M_r 284,2).

PREPARAZIONE

L'estratto si prepara dalla droga in frammenti per trattamento con *alcool al 60 per cento V/V R*, impiegando un metodo appropriato secondo le prescrizioni della monografia *Estratti* (0765) (Estratti fluidi).

CARATTERI

Liquido giallo-bruno, di odore caratteristico gradevole, di sapore amaro astringente. Intorbida per diluizione con acqua.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Scaldare 2 g a b.m. per 15 min con una miscela di 1 ml di *acido cloridrico R* e 30 ml di *acqua R*. Lasciar raffreddare ed agitare il liquido con 25 ml di *etere R*. Disidratare lo strato etero su *sodio solfato anidro R* e filtrare. Evaporare a secco la soluzione etera e disciogliere il residuo in 0,5 ml di *etere R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 mg di *emodina R* in 5 ml di *etere R*.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande, 20 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 1 volume di *acido formico anidro R*, 25 volumi di *etile acetato R* e 75 volumi di *etere di petrolio R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, a metà percorso, una banda con fluorescenza arancio (emodina). Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta: una banda corrispondente

all'emodina; al di sopra della banda dovuta all'emodina, 2 bande con la stessa fluorescenza (fiscione e crisofanolo, in ordine crescente di R_f) e, al di sotto della banda dell'emodina, altre 2 bande con la stessa fluorescenza (reina e aloe-emodina, in ordine decrescente di R_f). Spruzzare con una soluzione (100 g/l) di *potassio idrossido R* in *metanolo R*. Tutte le bande assumono un colore da rosso a violetto.

B. Agitare 2 g di estratto fluido diluito con *acqua R* con 5 ml di *etere R*. Separare lo strato etero ed agitarlo con 10 ml di *ammoniaca diluita R1*. Si sviluppa una colorazione da rosso a violetto nella fase acquosa.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Da 1,03 a 1,05.

Contenuto di etanolo (2.9.10). Tra il 48 e il 54 per cento V/V.

Residuo secco. Non inferiore al 15 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 0,1 g di estratto aggiungere 30,0 ml di *acqua R*, mescolare e pesare. Porre il pallone a b.m. e scaldare a ricadere per 15 min. Lasciar raffreddare, aggiungere 50 mg di *sodio bicarbonato R*, pesare e ristabilire la massa aggiungendo *acqua R*. Centrifugare e introdurre 10,0 ml del liquido in un pallone da 100 ml con collo a smeriglio. Aggiungere 20 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1* e mescolare. Scaldare a ricadere a b.m. per 20 min. Aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R* e continuare a scaldare per 20 min, agitando di frequente. Raffreddare, travasare la miscela in un imbuto separatore e agitare con 3 porzioni successive, ciascuna da 25 ml, di *etere R* utilizzate in precedenza per risciacquare il pallone. Riunire gli strati eteri e lavarli con 2 porzioni successive, ciascuna da 15 ml, di *acqua R*. Filtrare le soluzioni eteri, attraverso un piccolo batuffolo di ovatta, in un pallone tarato e diluire a 100,0 ml con *etere R*. Prelevare 10,0 ml della soluzione ed evaporare a secco, con precauzione, scaldando a b.m. e disciogliere il residuo in 10,0 ml di una soluzione (5 g/l) di *magnesio acetato R* in *metanolo R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) a 515 nm, utilizzando *metanolo R* come bianco.

Rabarbaro estratto secco

Calcolare il contenuto percentuale di derivati idrossiantraceni espressi come reina mediante l'espressione:

$$\frac{A \times 0,64}{m}$$

il valore dell'assorbanza specifica dovuta alla reina, calcolata per rapporto all'assorbanza specifica della barbaloina, è di 468.

A = assorbanza a 515 nm,

m = massa della droga usata, in grammi.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

Vedere la monografia *Estratti (0765)* (Estratti fluidi).

RABARBARO ESTRATTO SECCO

Rhei extractum siccum

DEFINIZIONE

L'estratto secco di rabarbaro si ottiene dal *Rabarbaro (0291)*. Contiene non meno del 5,0 per cento e non più dell' 8,0 per cento di derivati idrossiantraceni, calcolati come reina ($C_{15}H_8O_6$; M_r 284,2) con riferimento all'estratto essiccato.

PREPARAZIONE

L'estratto si prepara dalla droga in frammenti per trattamento con *alcool al 60 per cento V/V R*, impiegando un metodo appropriato secondo le prescrizioni della monografia *Estratti (0765)* (Estratti secchi).

CARATTERI

Polvere di colore da bruno-giallastro a bruno, igroscopica, di odore caratteristico, di sapore amaro astringente.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di gel di silice.

Soluzione in esame. Scaldare a b.m., per 15 min, 25 mg di sostanza in esame polverizzata con una miscela di 1 ml di *acido cloridrico R* e 30 ml di *acqua R*. Lasciar raffreddare ed agitare la miscela con 25 ml di *etere R*. Disidratare lo strato etero su *sodio solfato anidro R* e filtrare. Evaporare a secco la soluzione etera e disciogliere il residuo in 0,5 ml di *etere R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 mg di *emodina R* in 5 ml di *etere R*.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande, 20 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 1 volume di *acido formico anidro R*, 25 volumi di *etile acetato R* e 75 volumi di *etere di petrolio R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta, a metà percorso, una banda con fluorescenza arancio (emodina). Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta: una banda corrispondente all'emodina; al di sopra della banda dovuta all'emodina, 2 bande con la stessa fluorescenza (fiscione e crisofanolo, in ordine crescente di R_f) e, al di sotto della banda dell'emodina, altre 2 bande con la stessa fluorescenza (reina e aloe-emodina, in ordine decrescente di R_f). Spruzzare con una soluzione (100 g/l) di *potassio idrossido R* in *metanolo R*. Tutte le bande assumono un colore da rosso a violetto.

- B. Aggiungere a 25 mg di estratto 25 ml di *acido cloridrico diluito R* e scaldare a b.m. per 15 min. Dopo raffreddamento agitare la soluzione con 20 ml di *etere R* ed eliminare la fase acquosa. Agitare la fase etera con 10 ml di *ammoniaca diluita R1*. Si sviluppa una colorazione dal rosso al violetto nella fase acquosa.

SAGGI

Perdita dell'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 5,0 per cento, determinata come indicato alla monografia *Estratti (0765)* (Estratti secchi).

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiore al 10,0 per cento.

Sostanze insolubili in alcool al 60 per cento. Non superiore al 2,5 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere, se necessario scaldando leggermente, 50,0 mg dell'estratto in esame in 30,0 ml di *acqua R*. Aggiungere 50 mg di *sodio bicarbonato R* e centrifugare. Versare 10,0 ml della soluzione soprannatante in un pallone da 100 ml con collo a smeriglio, aggiungere 20 ml di una soluzione (100 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R1* e scaldare a ricadere, a b.m., per 20 min, agitando di frequente. Aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R* e continuare a scaldare per 20 min, agitando di frequente. Raffreddare, travasare la miscela in un imbuto separatore ed agitare con 3 porzioni successive ciascuna da 25 ml di *etere R*, utilizzate in precedenza per risciacquare il pallone. Riunire i 3 estratti eterici e lavarli con 2 porzioni successive ciascuna da 15 ml di *acqua R*. Filtrare le soluzioni eteriche, attraverso un piccolo batuffolo di cotone, in un pallone tarato e diluire a 100,0 ml con *etere R*. Evaporare accuratamente a secco 10,0 ml della soluzione eterica e disciogliere il residuo in 10,0 ml di una soluzione (5 g/l) di *magnesio acetato R* in *metanolo R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) a 515 nm, utilizzando *metanolo R* come bianco.

Calcolare il contenuto percentuale di derivati idrossiantraceni espressi come reina mediante l'espressione:

$$\frac{A \times 0,64}{m}$$

Il valore dell'assorbanza specifica dovuta alla reina, calcolata per rapporto all'assorbanza specifica della barbaloina, è di 468.

A = assorbanza a 515 nm,

m = massa della sostanza pesata, usata in grammi.

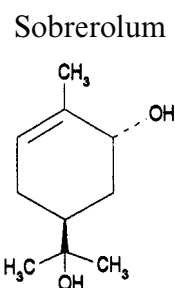
CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce e dall'umidità.

ETICHETTE

Vedere la monografia *Estratti (0765)* (Estratti secchi).

SOBREROLO



$C_{10}H_{18}O_2$

M_r 170,3

DEFINIZIONE

Il sobrero lo contiene non meno del 98,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,5 per cento di *p*-ment-6-en-2,8-diolo, calcolato con riferimento alla sostanza anidra.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca, moderatamente solubile in acqua e in cloroformio, solubile in alcool e in metanolo, molto poco solubile in esano.

IDENTIFICAZIONE

- Punto di fusione (2.2.14): da 130 °C a 139 °C.
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *sobrero lo SCR*. Esaminare la sostanza come dispersione in pastiglie di *potassio bromuro R*.
- Disciogliere 10,0 mg in 2 ml di *vanillina soluzione solforica R*: si sviluppa una colorazione rosso mattone che vira al blu-violetto per aggiunta di 3 ml di *acqua R*.

SAGGI

Soluzione S. In una beuta con tappo a smeriglio, disciogliere 2,0 g in 100 ml di *acqua R*, agitare per 1 h e filtrare.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) ed incolore (*Metodo II,2.2.2*).

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 5,0 e 7,0.

Sodio indigotindisolfonato

Potere rotatorio (2.2.7). Disciogliere 5,0 g in *metanolo R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Il potere rotatorio, calcolato con riferimento alla sostanza anidra, è compreso tra $-0,20$ e $+0,20$.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,5 g della sostanza in esame in *metanolo R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 50 mg di *sobrerolo SCR* in *metanolo R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 10 ml della soluzione ottenuta a 100,0 ml con *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 μ l della soluzione in esame e della soluzione di riferimento (b). Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 20 volumi di *alcol R* e 80 volumi di *cloroformio R*. Seccare la lastra in una corrente di aria calda e spruzzare con *vanillina soluzione solforica R*. Scaldare a 120 °C per 5 min. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

Metalli pesanti (2.4.8). Agitare 5,0 g per 15 min con 50 ml di *acqua R* e filtrare. 12 ml della soluzione ottenuta soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (10 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Acqua (2.5.12). Non più dello 0,5 per cento determinata su 0,300 g mediante il metodo semimicro.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g in un crogiuolo di platino.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,500 g in *metanolo R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. A 1,0 ml di soluzione aggiungere 40 ml di *acido cloridrico diluito R* e titolare con *bromuro-bromato 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

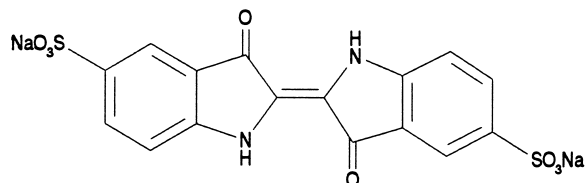
1 ml di *bromuro-bromato 0,1 M* equivale a 8,51 mg di $C_{10}H_{18}O_2$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso.

SODIO INDIGOTINDISOLFONATO

Natrium indigotindisulfonicum



$C_{16}H_8N_2O_8S_2Na_2$

M_r 466,35

DEFINIZIONE

Il sodio indigotindisolfonato (indaco carminio) contiene non meno del 97,0 per cento e non più dell'equivalente del 102,0 per cento del sale disodico dell'acido 3,3'-dioxo-2,2'-bi-indolinilidene-5,5' disolfonico, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere blu-porpora scura o cristalli blu con riflessi color rame, solubili in acqua, poco solubile in alcool, praticamente insolubile nella maggior parte di solventi organici.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione acquosa per aggiunta di *acido cloridrico R*, cambia il suo colore in blu-violetto; per ulteriore diluizione con *acqua R* il colore ritorna alla tonalità originale.
- Il colore della soluzione acquosa per aggiunta di *sodio idrossido 1 M* vira al giallo o al giallo-bruno.
- La soluzione preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, mostra un solo massimo di assorbimento a 610 nm.
- Dopo incenerimento, il residuo dà le reazioni caratteristiche (2.3.1) del sodio e dei solfati.

SAGGI

Sostanze insolubili in acqua. Disciogliere 1,0 g in 100 ml di *acqua R*, filtrare attraverso un filtro di vetro a setto poroso, tarato, lavare fino a quando il filtrato è praticamente incolore e seccare il residuo a 105 °C per 1 h. La massa del residuo non è superiore a 5 mg (0,5 per cento).

Arsenico (2.4.2). Disciogliere 2,5 g in *acqua R*, agitando bene e a lungo. 10 ml della soluzione soddisfano al saggio limite A per l'arsenico (8 ppm).

Metalli pesanti (2.4.8). 2 g soddisfano al saggio limite C per i metalli pesanti (200 ppm).

Zolfo. Procedere come descritto al capitolo *Combustione in ossigeno (2.5.10)* usando 25 mg della sostanza in esame. Ai prodotti di combustione e alle acque di lavaggio aggiungere 2 ml di *acido cloridrico R*, diluire a 250 ml con *acqua R*, scaldare all'ebollizione e, lentamente, aggiungere 10 ml di *bario cloruro soluzione R*. Scaldare a b.m. per 1 h e raccogliere il precipitato di solfato di bario su un filtro, lavando fino a scomparsa completa dei cloruri dal filtrato. Seccare il filtro, incenerire in un crogiuolo tarato e pesare.

1 g di residuo equivale a 137,4 mg di S. La quantità di zolfo, calcolata con riferimento alla sostanza essiccata, è compresa tra il 13,0 e il 14,0 per cento.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 3,0 per cento, determinata su 0,2 g per essiccamento in stufa a 105 °C per 3 h.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 100 mg in *acido cloridrico diluito R* (10 ml/l) e diluire a 500 ml. Diluire ancora 5 ml di questa soluzione a 100 ml con lo stesso acido cloridrico. Misurare l'assorbanza della soluzione al massimo di assorbimento a 610 nm, usando lo stesso acido cloridrico come bianco.

Calcolare il titolo di $C_{16}H_8N_2O_8S_2Na_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è 295.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

SODIO STIBOGLUCONATO

Natrium stibium gluconicum

DEFINIZIONE

Il sodio stibogluconato è un composto di antimonio pentavalente preparato da Sb_2O_5 , acido gluconico e sodio idrossido. Il sodio stibogluconato contiene non meno del 30,0 per cento e non più del 33,0 per cento di antimonio totale (Sb; A_r 121,75), calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina o amorfa, incolore, molto solubile in acqua, praticamente insolubile in alcool ed in etere.

IDENTIFICAZIONE

- La sostanza in esame, scaldata, carbonizza senza fondere con odore di zucchero bruciato e lascia un residuo.
- La soluzione acquosa è destrogira.
- Il residuo del saggio di identificazione (a) dà le reazioni caratteristiche dell'antimonio (2.3.1).
- Il residuo del saggio di identificazione (a) dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).
- Facendo gorgogliare per parecchi minuti *acido solfidrico R* in una soluzione acquosa (circa 50 g/l), si forma un precipitato arancione.

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere una quantità corrispondente a 10 g di antimonio totale in 100,0 ml di *acqua R* e riscaldare per 30 min in autoclave a 170 kPa.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è incolore o quasi incolore.

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 5,0 e 5,6.

Antimonio trivalente. Disciogliere 2,0 g in 30 ml di *acqua R*, aggiungere 15 ml di *acido cloridrico R* e titolare con *potassio bromato 0,00833 M* in presenza di *metilarancio soluzione R* come indicatore. Il volume di *potassio bromato 0,00833 M* utilizzato per la titolazione non è superiore a 1,3 ml.

Cloruri. Disciogliere 2,5 g in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 2 ml di *acido nitrico diluito R* e 75 ml di *tampone acetato soluzione a pH 5,0 R*. Titolare potenziometrica-

Sulfadimetoxina

mente con *argento nitrato 0,1 M*. Il volume di *argento nitrato 0,1 M* utilizzato per la titolazione non è superiore a 3 ml.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Tra il 10,0 per cento e il 15,0 per cento determinata per essiccamento in stufa a 130 °C, ad una pressione non superiore a 0,7 kPa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,160 g circa in 10 ml di *acido cloridrico R*, aggiungere 70 ml di *acido solforico R* e miscelare completamente. Titolare con *ferro(-oso) ammonico solfato 0,05 M*, preparato utilizzando *acqua R* contenente 20 ml/litro di una soluzione (500 ml/litro) di *acido solforico R*. Determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione utilizzando un elettrodo di platino come elettrodo di misura e un elettrodo di argento-argento cloruro come elettrodo di riferimento.

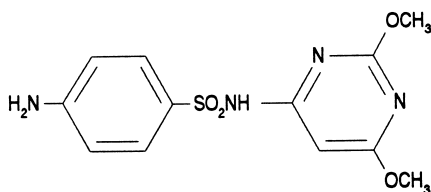
1 ml di *ferro(-oso) ammonico solfato 0,05 M* equivale a 3,044 mg di Sb (V).

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso.

SULFADIMETOXINA

Sulfadimethoxinum



$C_{12}H_{14}N_4O_4S$

M_r 310,2

DEFINIZIONE

La sulfadimetoxina contiene non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di 4-ammino-*N*-(2,6-dimetossi-4-pirimidil)benzensolfonammide, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o bianco-giallastra, molto poco solubile in acqua, molto solubile in acetone, poco solubile in alcool e in metanolo. Si scioglie negli acidi minerali diluiti e nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

IDENTIFICAZIONE

Prima identificazione: A, C.

Seconda identificazione: A, B, D, E.

- Punto di fusione (2.2.14): da 198 °C a 203 °C.
- Disciogliere 0,1 g in *alcool R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml della soluzione a 100,0 ml con lo stesso solvente. La soluzione, esaminata tra 230 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 273 nm. L'assorbanza specifica al massimo è di circa 708.
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *sulfadimetoxina SCR*. Esaminare la sostanza come dispersione in pastiglie di *potassio bromuro R*.
- A 0,1 g aggiungere 3 ml di *sodio idrossido soluzione R* e circa 50 ml di *acqua R*. Agitare fino a dissoluzione completa e diluire a 100 ml con *acqua R*. Introdurre 5 ml della soluzione in una provetta, aggiungere 100 mg di *fenolo R* e scaldare all'ebollizione. Raffreddare sotto acqua corrente e aggiungere 0,5 ml di *sodio ipoclorito soluzione concentrata R*. Agitare e aggiungere tre gocce di *sodio idrossido soluzione R*. Si sviluppa una colorazione giallo-oro.
- Dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S. Scaldare, a b.m. a 70 °C e per 5 min, 2,5 g della sostanza in esame con 50 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* agitando di frequente. Raffreddare e filtrare.

Aspetto della soluzione. Disciogliere 1,0 g in una miscela di 5 ml di *acido cloridrico R* e 5 ml di *acqua R*. La soluzione è limpida (2.2.1) e non più intensamente colorata della soluzione di riferimento G₆ (*Metodo II*, 2.2.2).

Acidità. Scaldare a circa 70 °C per 5 min 1,0 g della sostanza in esame con 50 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Raffreddare rapidamente e filtrare.

A 25 ml del filtrato aggiungere 0,5 ml di *fenoltaleina soluzione R*. Non sono necessari più di 0,2 ml di *sodio idrossido 0,1 M* per far virare l'indicatore.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di gel di silice.

Soluzione in esame. Disciogliere 25,0 mg in una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25,0 mg di *sulfanilammide R* in una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R* e diluire a 100 ml con la stessa miscela di solventi. Diluire 5,0 ml della soluzione a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 1 volume di *dimetilformamide R*, 2 volumi di *metanolo R* e 20 volumi di *cloroformio R*. Asciugare la lastra all'aria ed essiccare a 105 °C per 10 min. Spruzzare con una soluzione (1 g/l) di *dimetilaminobenzaldeide R* in *alcool R*, contenente l'1,0 per cento in volume di *acido cloridrico R*. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame nessuna macchia, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (0,5 per cento).

Cloruri (2.4.4). Diluire 10 ml della soluzione S a 15 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per i cloruri (100 ppm).

Solfati (2.4.13). Diluire 13,5 ml della soluzione S a 15 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per i solfati (200 ppm).

Metalli pesanti (2.4.8). Calcinare 2 g. Riprendere il residuo con 2 ml di *acido nitrico diluito R* ed evaporare a secco. Riprendere il residuo con 1 ml di *acido cloridrico diluito R* e 19 ml di *acqua R*. 12 ml della soluzione ottenuta soddisfano al saggio limite C per i metalli pesanti (20 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 2 ppm) R*.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,5 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,5 g in una miscela di 75 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R*. Scaldare, se necessario, fino a dissoluzione completa e raffreddare. Effettuare la determinazione dell'azoto amminico primario nei composti aromatici (2.5.8).

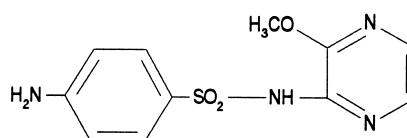
1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 31,02 mg di $C_{12}H_{14}N_4O_4S$.

CONSERVAZIONE

Conservare protetto dalla luce.

SULFAMETOPIRAZINA

Sulfametopyrazinum



$C_{11}H_{12}N_4O_3S$

M_r 280,2

DEFINIZIONE

La sulfametopirazina contiene non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di 4-ammino-*N*-(3-metossipirazinil)benzensolfonammide, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina, bianca o bianco-giallastra, praticamente insolubile in acqua, solubile in metanolo e in dimetilformamide, moderatamente solubile in acetone, poco solubile in alcool, cloroformio e etile acetato. Si scioglie negli acidi minerali diluiti e nelle soluzioni di idrossidi alcalini.

IDENTIFICAZIONE

- Punto di fusione (2.2.14): da 175 °C a 178 °C.
- Disciogliere 0,1 g in 10 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e aggiungere 2-3 gocce di *potassio permanganato 0,02 M*. Si sviluppa un'intensa colorazione verde.

Suramina sodica

C. Disciogliere circa 5 mg in 10 ml di *acido cloridrico 1 M*. Diluire 1 ml della soluzione a 10 ml con *acqua R*. La soluzione, senza ulteriore acidificazione, dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S. Scaldare a b.m., a 70 °C, 6,0 g della sostanza in esame con 30 ml di *acqua R*, agitando di frequente. Raffreddare e filtrare.

Aspetto della soluzione. Disciogliere 1,0 g in 10 ml di *sodio idrossido 1 M*. La soluzione è limpida (2.2.1).

Acidità. Scaldare 2,0 g con 50 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* a circa 70 °C per 5 min. Raffreddare rapidamente e filtrare. A 25 ml del filtrato aggiungere 0,5 ml di *fenoltaleina soluzione R*. Non sono necessari più di 0,5 ml di *sodio idrossido 0,1 M* per far virare l'indicatore.

Cloruri (2.4.4). 5 ml della soluzione S, diluiti a 15 ml con *acqua R*, soddisfano al saggio limite per i cloruri (50 ppm).

Solfati (2.4.13). 15 ml della soluzione S soddisfano al saggio limite per i solfati (50 ppm).

Metalli pesanti (2.4.8). Diluire 5 ml della soluzione S a 20 ml con *acqua R*. 12 ml della soluzione ottenuta soddisfano al saggio limite A per i metalli pesanti (20 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 0,5 per cento, determinata su 1,000 g, per essiccamento in stufa a 100-105 °C.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,500 g in una miscela di 75 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R* e scaldare, se necessario, fino a dissoluzione completa. Raffreddare in acqua ghiacciata ed effettuare la determinazione dell'azoto amminico primario nei composti aromatici (2.5.8). Determinare il punto di fine titolazione elettrometricamente.

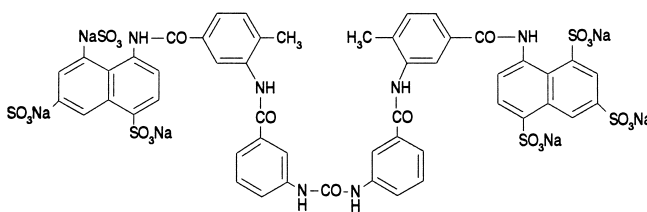
1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 28,02 mg di $C_{11}H_{12}N_4O_3S$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

SURAMINA SODICA

Suraminum natrium



$C_{51}H_{34}N_6Na_6O_{23}S_6$

M_r 1429

DEFINIZIONE

La suramina sodica contiene non meno del 97,5 per cento di esasodio 8,8'-[carbonilbis[immino-3,1-fenilen-carbonilimmino(4-metil-3,1-fenilen)carbonilimmino]]-bis-1,3,5-naftalentrissulfonato, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere bianca o bianco-rosata, igroscopica, solubilissima in acqua, molto poco solubile in alcool, praticamente insolubile in cloroformio ed in etere.

IDENTIFICAZIONE

- A. A 0,05 g aggiungere 2 ml di *acido solforico R* diluito con un volume uguale di *acqua R* e scaldare per circa 5 min. Raffreddare, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 0,02 g di *sodio nitrito R*. Dopo 1 min aggiungere 0,2 g di *urea R* ed agitare. Dopo altri 2 min prelevare 0,2 ml di questa soluzione ed aggiungere una miscela composta da 0,01 g di *naftilammia R* e 0,5 g di *sodio acetato R* in 5 ml di *acido acetico R*: si sviluppa una colorazione rosso-porpora.
- B. Il residuo alla calcinazione dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 0,5 g in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1).

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 5,5 e 6,8.

Ammine libere. Disciogliere 5,0 g in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 2,5 ml di *acido cloridrico R* e titolare, alla temperatura di 15-20 °C, con *sodio nitrito 0,1 M* in presenza di *amido iodata cartina R*. Eseguire contemporaneamente una prova in bianco: la differenza tra i volumi consumati nelle due titolazioni non è superiore a 0,4 ml di *sodio nitrito 0,1 M*.

Cloruri (2.4.4). 15 ml della soluzione S soddisfano il saggio limite per i cloruri (10 ppm).

Solfati (2.4.13). 15 ml della soluzione S soddisfano il saggio limite per i solfati (100 ppm)

Metalli pesanti (2.4.8). 12 ml della soluzione S soddisfano il saggio limite A per i metalli pesanti (10 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando la *soluzione standard di piombo (Pb 1 ppm) R*.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 8,0 per cento determinata su 0,2 g per essiccamento in stufa a 130 °C.

Tossicità anormale (2.6.9). Soddisfa il saggio della tossicità anormale. Iniettare a ciascun topo 0,0125 ml di una soluzione (2,5 g/l) della sostanza in esame in *acqua per preparazioni iniettabili R*.

Attività. Eseguire il saggio su almeno 10 topi infettati con un ceppo di *Trypanosoma equiperdum* o con altre specie di ceppi adatti di tripanosomi sensibili alla suramina. Dopo 48 h dall'inoculazione con i tripanosomi, determinare al microscopio il loro numero per ml nel sangue di ciascun topo. Il numero dovrebbe essere compreso tra 1000 e 20000. La valutazione può essere eseguita esaminando un sottile striscio di sangue e contando i tripanosomi in almeno dieci quadratini aventi un'area di 0,12 mm². La presenza da 1 a 20 tripanosomi in ogni coppia di quadratini affiancati, corrisponde approssimativamente ad un contenuto da 1000 a 20000 tripanosomi per millilitro. Iniettare per via endovenosa ai 10 topi infettati, 0,016 ml di una soluzione di suramina (0,05 g/l) in *acqua distillata R*, per grammo di massa corporea. Esaminare il sangue di ciascun topo al microscopio, il primo e terzo giorno dopo la sommi-

nistrazione. Il terzo giorno procedere all'esame di 20 quadratini, come descritto sopra: se non si trovano tripanosomi nel sangue di 5 o più topi, il campione soddisfa al saggio. Se invece si riscontrano tripanosomi nel sangue di più di 5 topi, la prova deve essere ripetuta. Il campione soddisfa al saggio se non si ritrova nessun tripanosoma nel sangue di almeno il 50 per cento del numero totale dei topi trattati nelle due prove.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 1,0 g aggiungere 10 ml di *acido solforico R* diluito con volume uguale di *acqua R* e scaldare a ricadere per 1 h. Raffreddare e diluire a circa 100 ml con *acqua R*. Determinare l'azoto amminico primario nei composti aromatici (2.5.8).

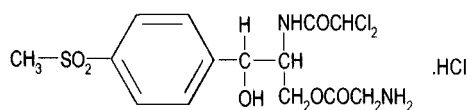
1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 23,82 mg di C₅₁H₃₄N₆Na₆O₂₃S₆.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce e ad una temperatura non superiore a 20 °C.

TIAMFENICOLO
GLICINATO CLORIDRATO

Thiamphenicolum glycinicum hydrochloridum



C₁₄H₉Cl₃N₂O₆S

M_r 449,7

DEFINIZIONE

Il tiamfenicolo glicinato cloridrato contiene non meno del 99,0 per cento del cloridrato di 2,2-dicloro-N-[(1R,2R)-2-idrossi-1-amminoacetilossimetil-2-(4-metilsolfonilfenil)etil] acetammide, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata.

Materie
Prime

CARATTERI

Polvere cristallina, bianca o leggermente giallastra, molto solubile in acqua, poco solubile in alcool, praticamente insolubile in etere.

IDENTIFICAZIONE

Prima identificazione: A.

Seconda identificazione: B, C, D.

A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *tiamfenicolo glicinato cloridrato SCR*. Essiccare le sostanze in stufa a 100-105 °C per 2 h ed esaminare come dispersione in pastiglie di *potassio bromuro R*. Se gli spettri ottenuti allo stato solido con la sostanza in esame e la sostanza di riferimento mostrano differenze, disciogliere separatamente la sostanza in esame e la sostanza di riferimento in *alcool R*, evaporare a secco e registrare nuovi spettri usando i residui.

B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di gel di silice.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,250 g in 5,0 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,250 g di *tiamfenicolo glicinato cloridrato SCR* in 5,0 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*.

Deporre separatamente sulla lastra 4 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 14 cm usando una miscela di 10 volumi di *acido acetico R*, 40 volumi di *butanolo R* e 50 volumi di *acqua R*. Essiccare la lastra all'aria calda e spruzzare con una soluzione (50 g/l) di *potassio permanganato R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore alla luce del giorno e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

C. Disciogliere circa 5 mg in 1 ml di *butanolo R* e aggiungere 2-3 gocce di *ninidrina soluzione R*. Si sviluppa un'intensa colorazione violetta.

D. La soluzione acquosa dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere 2,5 g in *acqua R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 4,5.

Potere rotatorio specifico (2.2.7). Disciogliere 1,25 g in *acqua R* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente. Il potere rotatorio specifico, calcolato con riferimento alla sostanza essiccata, è compreso tra +11,0 e +12,5.

Assorbanza (2.2.25). Disciogliere circa 20 mg in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml della soluzione a 100,0 ml con *acqua R*. La soluzione, esaminata tra 200 nm e 300 nm, mostra tre massimi di assorbimento a 224 nm, a 266 nm e a 273 nm. Le assorbanze specifiche a questi massimi sono comprese rispettivamente tra 300 e 325, tra 19,5 e 22,5, tra 16,5 e 19,5.

Glicina libera. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 1,00 g della sostanza in esame in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 1 volume di *etanolo R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glicina SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 1 volume di *etanolo R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1,0 ml della soluzione di riferimento (a) a 10,0 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 1 volume di *etanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl della soluzione in esame e della soluzione di riferimento (b). Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 20 volumi di *acido acetico glaciale R*, 20 volumi di *acqua R* e 60 volumi di *butanolo R*. Essiccare la lastra all'aria calda fino a scomparsa dell'odore dei solventi. Spruzzare con una soluzione (1 g/l) di *ninidrina R* in *butanolo R* e mantenere per 15 min a 105 °C. L'eventuale macchia corrispondente alla glicina libera non è più intensa della macchia ottenuta nel cromatogramma con la soluzione di riferimento (b) (0,1 per cento).

Tiamfenicolo libero. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 1,00 g della sostanza in esame in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 1 volume di *etanolo R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *tiamfenicolo SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 1 volume di *etanolo R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl della soluzione in esame e della soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 20 volumi di *etere etilico R* e 60 volumi di *metilchetone R*. Essiccare la lastra all'aria calda fino a scomparsa dell'odore dei solventi. Spruzzare la lastra con i reattivi di sviluppo nell'ordine seguente, *amido soluzione R*, poi con *sodio ipoclorito soluzione concentrata R* evitando di bagnare troppo la lastra e quindi con *alcool al 95 per cento V/V R*. Asciugare con aria fredda fino a scomparsa dell'odore di cloro. Spruzzare infine con *potassio ioduro soluzione RI* fino a sviluppo delle macchie. L'eventuale macchia corrispondente al tiamfenicolo libero nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame non è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (1 per cento).

Metalli pesanti (2.4.8). 1,0 g soddisfa al saggio limite C per i metalli pesanti (10 ppm). Preparare la soluzione di riferimento utilizzando 1 ml della *soluzione standard di piombo (Pb 10 ppm) R*.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore allo 1,0 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento in stufa a 100-105 °C.

Ceneri solforiche (2.4.14). Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 2,0 g.

Endotossine batteriche (2.6.14). Se destinata alla preparazione di forme farmaceutiche per uso parenterale senza un'ulteriore appropriata procedura di rimozione delle endotossine batteriche, non più di 0,37 U.I. di endotossine per milligrammo.

Pirogeni (2.6.8). Se destinata alla preparazione di forme farmaceutiche per uso parenterale senza un'ulteriore appropriata procedura di rimozione dei pirogeni, l'Autorità competente può richiedere che soddisfi al saggio dei pirogeni. Utilizzare, per chilogrammo di massa corporea del coniglio, una dose di 60 mg della sostanza in esame disciolti in 1 ml di *acqua per preparazioni iniettabili R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disciogliere 0,400 g in 50 ml di *acido acetico anidro R* ed aggiungere 10 ml di *mercurio(-ico) acetato soluzione R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, usando come indicatore 0,5 ml di *cristal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 1 M* equivale a 44,97 mg di $C_{14}H_9Cl_3N_2O_6S$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso, che la sostanza è idonea all'uso parenterale.

TOSSINA DIFTERICA PER USO DIAGNOSTICO

Toxinum diphthericum diagnosticum

DEFINIZIONE

La tossina difterica per uso diagnostico è la preparazione utilizzata per rilevare, mediante la prova di Schick, l'assenza di immunità contro la difterite.

PRODUZIONE

Si prepara a partire dal filtrato sterile di una coltura in terreno liquido di un ceppo tossigeno di *Corynebacterium diphtheriae*. Una sottocoltura ben caratterizzata del ceppo PW-8 si è rivelata soddisfacente. La tossina può essere purificata. Viene diluita in modo che la dose di prova sia contenuta in 0,1 ml o 0,2 ml. Per assicurare la stabilità della preparazione il diluente è costituito da una soluzione sterile, descritta di seguito, isotonica con il sangue, contenente un adatto battericida. Come diluente usare una soluzione acquosa sterile contenente una miscela (15 g/l) di 57 g di *borace R*, 85 g di *acido borico R* e 99 g di *sodio cloruro R* o qualsiasi altra soluzione tampone a pH compreso tra 7,2 e 7,4, isotonica con il sangue. La preparazione è distribuita in recipienti sterili che vengono poi chiusi ermeticamente in modo da evitare ogni contaminazione microbica.

CARATTERI

Si presenta sotto forma di un liquido limpido, incolore o di colore giallo paglierino molto debole.

IDENTIFICAZIONE

Utilizzare una cavia o un coniglio sani, di colore bianco, non trattati in precedenza con sostanze che potrebbero interferire nel saggio. La preparazione, inoculata per via intradermica nell'animale, provoca una reazione locale; mescolata con una quantità sufficiente di antitossina difterica, non provoca più questa reazione.

SAGGI

Sterilità (2.6.1). Soddisfa al saggio di sterilità.

ATTIVITA' BIOLOGICA

La dose umana singola della preparazione, contenuta in 0,1 ml o in 0,2 ml, corrisponde a una dose di tossina difterica di prova. L'attività della dose di prova è definita dalla sua capacità di combinazione con l'antitossina difterica e dalla sua attività eritrogenica, misurata in Unità Internazionali di tossina per prova di Schick (difterica).

Capacità di combinazione. Preparare due miscele di tossina tali che la prima contenga una dose di prova e 1/750 di U.I. di antitossina difterica e la seconda una dose di prova e 1/1250 di U.I. di antitossina difterica. Lasciare in incubazione le due miscele a temperatura ambiente per 30-60 min. Usare una cavia bianca di almeno 500 g o un coniglio bianco di almeno 2,5 kg che non sono stati trattati precedentemente con sostanze che potrebbero interferire con il saggio. Radere i fianchi degli animali. Inoculare per via intradermica le due sospensioni, ciascuna su un fianco diverso dell'animale. Esaminare l'animale 48 h dopo l'inoculazione. Non si manifesta alcuna reazione sul fianco su cui è stata inoculata la miscela contenente 1/750 di U.I. di antitossina difterica, invece sul fianco su cui è stata inoculata la miscela contenente 1/1250 di U.I. di antitossina difterica, si manifesta una reazione del tipo Schick positivo.

Attività eritrogenica. Si determina confrontando nelle cavie o nei conigli gli effetti delle inoculazioni intradermiche di diluizioni in serie di una dose di prova con quelli di diluizioni corrispondenti di una preparazione di riferimento, titolata in Unità Internazionali. L'equivalenza in Unità Internazionali dello Standard Internazionale è stabilita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità. Usare due cavie o due conigli bianchi, sani e non trattati in precedenza con sostanze che potrebbero interferire nel saggio; essi sono rasati in modo che ogni animale presenti una superficie di pelle rasata sufficiente per 16 distinte inoculazioni, divise in due gruppi di 4 ciascuno, su ogni fianco. Preparare due diluizioni della preparazione da esaminare e due diluizioni della preparazione di riferimento tali che, in entrambi i casi, la concentrazione di tossina delle diluizioni sia 1/5 della concentrazione di tossina dell'altra e che le soluzioni inoculate per via intradermica nelle cavie o nei conigli, alla dose di 0,2 ml, provochino eritemi di adeguata grandezza. A tal fine preparare soluzioni della tossina in esame diluendo 1 volume della preparazione, rispettivamente, con 2 volumi e con 14 volumi di diluente e soluzioni della preparazione di riferimento contenenti 1/3 di U.I. e 1/15 di

U.I. in 0,2 ml. Inoculare in successione per via intradermica, a ciascun animale, 0,2 ml di ciascuna delle quattro soluzioni in quattro punti: le quattro iniezioni di ogni soluzione, nei 16 punti differenti previsti per ciascun animale, devono formare un quadrato latino. Dopo due giorni misurare l'asse longitudinale e trasversale di ogni lesione. Sulla base della media geometrica delle misure suddette, calcolare mediante l'analisi di regressione l'attività eritrogenica di una dose di prova in rapporto alla Unità Internazionale di tossina difterica. L'attività misurata non è inferiore a 0,5, né superiore a 2,0 U.I.

Stabilità. La tossina difterica per uso diagnostico, preparata come sopra descritto, mantiene la sua attività per due mesi ad una temperatura di 25 °C.

CONSERVAZIONE

Conservare in frigorifero ad una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C. Conservata nelle condizioni prescritte, la preparazione può essere utilizzata per due anni, a partire dall'inizio del saggio di attività eritrogenica, se la confezione contiene almeno 1,5 ml, oppure per sei mesi se contiene non più di 0,25 ml (dose unitaria).

ETICHETTE

L'etichetta è conforme alle prescrizioni generali internazionali e nazionali in materia. L'etichetta del recipiente e dell'imballaggio indica:

- il nome della preparazione,
- il volume totale contenuto nel recipiente,
- il volume della dose di prova,
- il numero del lotto,
- il nome del produttore.

TREMENTINA ESSENZA MEDICINALE

Terebenthinae aetheroleum medicinale

DEFINIZIONE

L'essenza di trementina medicinale si ottiene per distillazione in corrente di vapore acqueo dalla oleoresina di diverse specie di *Pinus*, specialmente *Pinus pinaster* Aiton, *Pinus palustris* Mill. e *Pinus sylvestris* L. e susseguente rettificazione. Può contenere un antiossidante appropriato.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore, fortemente rifrangente, con odore di trementina; miscibile con carbonio solfuro, alcool, etere, etere di petrolio, oli grassi, paraffina liquida e acido acetico glaciale.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). Da 0,855 a 0,875.

Indice di rifrazione (2.2.6). Da 1,465 4 a 1,478.

Intervallo di distillazione (2.2.11). Nessuna frazione distilla al di sotto di 150 °C. Non meno di 45 ml distillano tra 154 °C e 170 °C.

Acqua (2.8.5). Soddisfa al saggio Acqua nelle essenze.

Acidità. Disciogliere 1,0 ml in 10 ml di *alcool R*, previamente neutralizzati con *sodio idrossido 0,01 M* in presenza di 0,25 ml di *fenolftaleina soluzione RI*, fino a colorazione debolmente rosa. Questa soluzione si colora distintamente in rosso per aggiunta di non più di 0,3 ml di *sodio idrossido 0,01 M*.

Oli grassi ed essenze resinificate (2.8.7). Soddisfa al saggio Oli grassi ed essenze resinificate nelle essenze.

Residuo alla evaporazione delle essenze (2.8.9). Non superiore all'1,0 per cento *m/m*. Pesare 2,0 g rapidamente entro un pesafiltro del diametro di circa 50 mm e altezza 30 mm. Evaporare a secco a b.m. ed essiccare a 100-105 °C per 3 h. Lasciare raffreddare il residuo in essiccatore su *anidride fosforica R* e pesare. Utilizzare il residuo per il saggio Oli minerali.

Oli minerali. Il residuo ottenuto al saggio Residuo all'evaporazione è solubile in 1 ml di *acido acetico glaciale R* dando una soluzione limpida.

Solubilità delle essenze in alcool (2.8.10). Solubile in 7 volumi di *alcool al 90 per cento V/V R* e in 3 volumi di *alcool al 96 per cento V/V R*.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, possibilmente completamente riempito, protetto dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica la natura e la quantità dell'antiossidante aggiunto.

APPENDICE

Profilo cromatografico. Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. La sostanza in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 70 mg di α -*pinene R*, 20 mg di β -*pinene*, 10 mg di β -*mircene R*, 20 mg di *limonene R* in 1 ml di *esano R*.

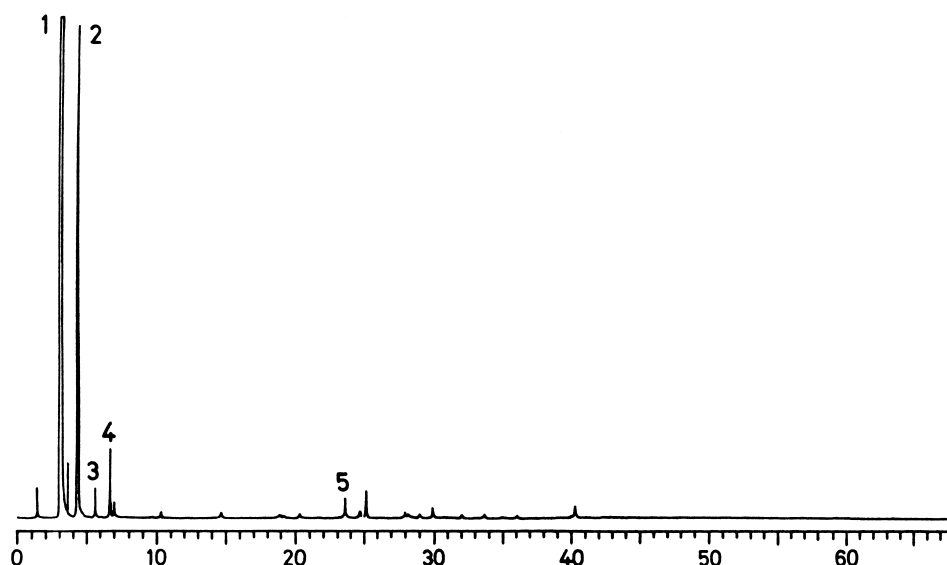
Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 60 m e con diametro interno di circa 0,25 mm, rivestita internamente di *macrogol 2000 R* per cromatografia,
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma,
- un rapporto di frazionamento 1:100.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 8 min; quindi innalzarla, ad una velocità di 3 °C per minuto a 180 °C e mantenerla a 180 °C per 5 min; mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 270 °C. Iniettare circa 0,1 μ l della soluzione di riferimento. Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Notare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se il numero di piatti teorici è almeno 30000. Iniettare circa 0,2 μ l della sostanza in esame. Usando i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento, individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame. Non considerare il picco corrispondente al solvente. Calcolare il contenuto percentuale di ciascuno dei componenti mediante il procedimento di normalizzazione. A titolo indicativo, le percentuali dei componenti più caratteristici per l'essenza di trementina medicinale, cui si riferisce il cromatogramma riportato in figura, sono le seguenti:

α -Pinene	73,1 per cento
β -Pinene	17,0 per cento
β -Mircene	0,8 per cento
Limonene	2,1 per cento
Linalolo	0,9 per cento

Il cromatogramma tipo è dato per informazione e guida nell'applicazione del metodo analitico. Esso non è parte dei requisiti della monografia.



Cromatogramma tipo dell'essenza di trementina

- | | |
|---------------------|-------------|
| 1. α -Pinene | 4. Limonene |
| 2. β -Pinene | 5. Linalolo |
| 3. β -Mircene | |

VACCINO TIFOIDEO PER USO ORALE

IDENTIFICAZIONE

Il vaccino tifoideo per uso orale soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Vaccini per uso umano (0153)

Il vaccino, disperso in 2 ml di *acqua R*, è identificato mediante agglutinazione specifica.

DEFINIZIONE

Il vaccino tifoideo per uso orale è costituito da un ammasso di *Salmonella typhi* uccisa e compressa con un eccipiente. Ogni compressa contiene $5 \times 10^{10} - 2 \times 10^{11}$ microrganismi.

SAGGI

PREPARAZIONE

Il vaccino tifoideo per uso orale è preparato con microrganismi uccisi, come prescritto nella monografia Vaccino tifoideo (0156) e presentato sotto forma di compresse; tra gli eccipienti e componenti non attivi è ammesso l'uso di sostanze disperdenti come il deidrocolato di etile e l'aggiunta di conservanti idonei.

Microrganismi contaminanti (2.6.16, 2.6.13). Disperdere ciascuna compressa, asepticamente, in 2 ml di *acqua R* sterile ed effettuare una semina su un appropriato terreno solido; si sviluppano non più di 100 colonie di microrganismi saprofiti e 5 muffe per grammo. Non si rilevano batteri patogeni.

CARATTERI

Compresse di colore biancastro o leggermente colorate per la presenza di eccipienti o di conservanti.

Potere agglutinogeno. Disperdere una compressa in 2 ml di *acqua R* sterile e somministrare la sospensione con un sondino gastrico ad un coniglio di 2 kg il cui siero è privo di agglutinine antitifiche O; ripetere la somministrazione per 3 giorni. Dopo 10 giorni dall'ultima somministrazione salassare il coniglio e dosare le agglutinine O il cui titolo non deve essere inferiore a 1:200 (media per 6 conigli).

CONSERVAZIONE

In recipienti che preservano il vaccino dall'umidità e da contaminazioni esterne.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il metodo usato per inattivare i batteri,
- il numero di batteri per dose umana.

VACCINO VIVO DA BRUCELLA ABORTUS PER USO VETERINARIO

Il vaccino vivo da brucella abortus soddisfa anche ai requisiti definitivi nella monografia Vaccini per uso veterinario (0062)

DEFINIZIONE

Il vaccino vivo da *Brucella abortus*, per uso veterinario, è una sospensione liofilizzata di cellule batteriche di *Brucella abortus* ceppo 19, vive, in fase liscia (S) e con virulenza attenuata. Il ceppo 19 di *B. abortus* viene coltivato su un terreno appropriato con un metodo di coltura che evita la dissociazione batterica al fine di conservare la coltura stessa in fase liscia (S). Le patine batteriche si raccolgono in un'appropriata soluzione tampone a pH 6,8. La sospensione è ripartita nei recipienti e liofilizzata.

CARATTERI

Polvere biancastra o massa solida friabile, molto solubile in acqua.

IDENTIFICAZIONE

Identificare la *B. abortus* presente nel vaccino mediante saggi morfologici, sierologici e culturali; il ceppo 19 è inibito per aggiunta, nel terreno di coltura appropriato, di 1 ml di eritritolo per millilitro.

SAGGI

Microrganismi estranei. Seminare 0,1 ml di vaccino ricostituito rispettivamente in 10 tubi di terreni di coltura idonei; non si evidenziano microrganismi estranei. La tecnica e i mezzi di coltura sono analoghi a quelli indicati nel capitolo *Sterilità (2.6.1)*. Utilizzare terreni solidi per evidenziare la presenza del ceppo 19 di *B. abortus*.

Carica batterica. Il vaccino, ricostituito come indicato in etichetta, si diluisce a 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} in una soluzione (9 g/l) di *sodio cloruro R* tamponata a pH 6,8. Distribuire 1 ml su piastre contenenti 25 ml di agar infuso di patata. Dopo 48-72 h di incubazione a 37 °C contare le colonie, risalendo in tal modo al numero di batteri presenti in 1 ml di vaccino. Il vaccino contiene non meno di 6×10^{10} e non più di 8×10^{10} batteri vivi per dose. Dopo un'incubazione di 7 giorni a 37 °C la perdita di batteri vivi non è superiore al 40 per cento.

Determinazione della fase. Sottoporre a un saggio di agglutinazione rapida su vetrino una parte della coltura del vaccino di 48-72 h su agar infuso di patata, utilizzando una goccia di tripaflavina allo 0,2 per cento e di acriflavina allo 0,1 per cento in *acqua R*. La coltura vaccinale è in fase liscia (S) e non provoca quindi agglutinazione. È consentita la presenza del 15 per cento di colonie dissociate in senso S→R. Allo scopo di rilevare questa percentuale di dissociazione, inoculare ciascuna di tre piastre con 0,1 ml di una diluizione 10^{-2} di vaccino e ciascuna di altre tre piastre con 0,1 ml di una diluizione a 10^{-3} di vaccino. Dopo 4-5 giorni di incubazione a 37 °C, versare *crystal violetto soluzione alcalina R* sull'agar fino a ricoprirlo e mantenere in contatto per 15-20 s. Eliminare l'eccesso di colorante ed osservare le colonie con una lente di ingrandimento o con un microscopio binoculare. Le colonie in fase liscia (S) non si colorano e si presentano di color grigio-giallastro, mentre in fase ruvida (R) si colorano in rosso-porpora o blu.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- il numero di brucelle per dose di vaccino,
- che il vaccino ricostituito deve essere utilizzato immediatamente,
- che il vaccino è destinato a bovini di età compresa tra 4 mesi e 7 mesi.

Preparazioni Farmaceutiche Specifiche

A

Acido acetilsalicilico compresse	1021
Acido acetilsalicilico compresse gastroresistenti	1021
Acido acetilsalicilico e codeina fosfato compresse	1022
Acido ascorbico compresse	1023
Acido borico bagno oculare	1024
Acido borico soluzione cutanea	1024
Acido borico unguento	1025
Acido etacrinico compresse	1025
Acido lattico ovuli	1026
Acido nalidixico compresse	1027
Acido nalidixico sciroppo	1027
Acido salicilico soluzione cutanea	1028
Acido salicilico soluzione cutanea oleosa	1029
Acido salicilico unguento	1029
Acido salicilico e resorcinolo soluzione cutanea	1030
Acido tricloroacetico soluzione cutanea	1030
Adrenalina collirio soluzione	1030
Adrenalina preparazione iniettabile	1031
Alcool saponato soluzione cutanea	1032
Alcooli di lanolina crema e unguento base	1033
Allopurinolo compresse	1033
Allume composto polvere per soluzione cutanea	1034
Alluminio ossido idrato compresse masticabili	1034
Alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato compresse masticabili	1035
Alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato polvere per sospensione orale	1036
Aloperidolo compresse	1037
Aloperidolo preparazione iniettabile	1038
Amitriptilina compresse rivestite	1038
Ammonio cloruro concentrato sterile	1039
Amoxicillina capsule	1040
Amoxicillina compresse	1041
Amoxicillina granulato per sospensione orale	1043
Ampicillina capsule	1045
Ampicillina sodica preparazione iniettabile	1047
Anfifila crema base	1049
Antazolina e nafazolina collirio soluzione	1049
Argento nitrato collirio soluzione	1050
Argento nitrato matita cutanea	1051

Argento proteinato gocce nasali	1051
Atropina collirio soluzione	1052
Atropina compresse	1052
Atropina preparazione iniettabile	1053
Atropina preparazione oftalmica semisolida	1054

B

Bacitracina e polimixina preparazione oftalmica semisolida	1055
Bacitracina e polimixina unguento	1056
Base per emulsione cutanea	1057
Basi per preparazioni liquide per uso orale	1057
Benzalconio concentrato per soluzione cutanea	1058
Benzile benzoato unguento	1058
Benzilpenicillina benzatinica preparazione iniettabile	1059
Benzilpenicillina potassica preparazione iniettabile	1061
Benzoile perossido crema	1063
Betametasona preparazione semisolida per applicazione cutanea	1064
Betametasona e neomicina preparazione semisolida per applicazione cutanea	1064
Bromosulfoftaleina preparazione iniettabile	1066

C

Calcio carbonato e magnesio idrossido compresse	1066
Calcio cloruro concentrato sterile	1067
Calcio cloruro e magnesio cloruro concentrato sterile	1068
Calcio gluconato preparazione iniettabile	1068
Calcio idrossido emulsione cutanea	1069
Calcio idrossido soluzione cutanea	1070
Calcio idrossido unguento	1070
Canfora crema	1070
Canfora soluzione cutanea	1071
Canfora soluzione cutanea oleosa	1072
Canfora e metile salicilato crema	1072
Canfora, eucaliptolo e mentolo unguento	1073
Carbone composto compresse	1074
Carbone polvere per sospensione orale	1075

Carbone e alluminio ossido idrato polvere per sospensione orale	1075
Cefalexina capsule	1076
Cefalexina compresse	1077
Cefalexina granulato per sospensione orale	1078
Cefalotina sodica preparazione iniettabile	1079
Cetrimide concentrato per soluzione cutanea	1081
Chinidina solfato compresse	1081
Chinina cloridrato concentrato sterile	1082
Chinina solfato compresse rivestite	1083
Clofenotano polvere cutanea	1083
Cloramfenicolo capsule	1084
Cloramfenicolo collirio soluzione	1085
Cloramfenicolo unguento oftalmico	1086
Cloramfenicolo palmitato sciroppo	1087
Cloramfenicolo sodio succinato preparazione iniettabile	1088
Clordiazepossido compresse rivestite	1089
Cloroquina fosfato compresse	1090
Clorpromazina compresse rivestite	1091
Clorpromazina preparazione iniettabile	1092
Clorpromazina sciroppo	1093
Clorpropamide compresse	1093
Cloxacillina capsule	1094
Cloxacillina granulato per soluzione orale	1095
Cloxacillina sodica preparazione iniettabile	1096
Codeina capsule	1098
Codeina compresse	1098
Codeina e paracetamolo capsule	1099
Codeina e paracetamolo compresse	1100
Codeina e sodio benzoato sciroppo	1101
Colchicina compresse	1102
Cortisone compresse	1102

D

Desametasone compresse	1103
Destrometorfano compresse masticabili	1105
Destrometorfano gocce orali	1106
Destrometorfano sciroppo	1107
Dexpantenolo crema	1108
Dexpantenolo composto crema	1109
Dexpantenolo crema idrofoba	1109
Diazepam compresse rivestite	1109
Diazepam preparazione iniettabile	1110
Difenidramina compresse	1111
Difenidramina sciroppo	1112
Digitossina compresse	1113
Digitossina preparazione iniettabile	1115
Digossina compresse	1115

Digossina preparazione iniettabile	1116
Dimenidrinato compresse	1117
Dimeticone capsule	1118
Dimeticone crema	1118
Dopamina concentrato sterile	1119
Doxiciclina capsule	1120

E

Efedrina compresse	1121
Efedrina preparazione iniettabile	1121
Elettrolitica bilanciata di mantenimento con glucosio I infusione endovenosa	1123
Elettrolitica bilanciata di mantenimento con glucosio II infusione endovenosa	1125
Elettrolitica di mantenimento con glucosio infusione endovenosa	1126
Elettrolitica equilibrata enterica infusione endovenosa	1129
Elettrolitica equilibrata gastrica infusione endovenosa	1130
Elettrolitica equilibrata gastrica con glucosio al 10 per cento infusione endovenosa	1130
Elettrolitica equilibrata pediatrica infusione endovenosa	1132
Elettrolitica reidratante I infusione endovenosa	1134
Elettrolitica reidratante III infusione endovenosa	1135
Elettrolitica reidratante III con glucosio infusione endovenosa	1136
Elettrolitica reidratante con glucosio e calcio gluconato infusione endovenosa	1138
Elettrolitica reidratante soluzione orale	1140
Emetina preparazione iniettabile	1141
Ergometrina compresse	1142
Ergometrina preparazione iniettabile	1143
Ergotamina compresse	1144
Ergotamina preparazione iniettabile	1145
Eritromicina crema	1146
Eritromicina soluzione cutanea	1147
Eritromicina etilsuccinato granulato per sospensione orale	1148
Eritromicina lattobionato preparazione iniettabile	1148
Eritromicina stearato compresse rivestite con film	1150
Etambutolo compresse rivestite	1151
Eucalipto composto gocce nasali	1152
Eucalipto e pino silvestre unguento	1152
Eugenolo e clorobutanolo soluzione dentale	1152

F

Fenilbutazone compresse rivestite	1153
Fenilbutazone supposte	1154
Fenilefrina collirio soluzione	1155
Fenilefrina gocce nasali soluzione	1155
Fenilefrina e idrocortisone gocce nasali sospensione	1156
Fenitoina compresse	1157
Fenitoina sciroppo	1158
Fenobarbital compresse	1158
Fenobarbital supposte	1159
Fenobarbital sodico liquido per uso orale	1160
Fenobarbital sodico preparazione iniettabile	1160
Fenolo gocce auricolari	1161
Fenolo soluzione cutanea	1162
Fenolsulfonftaleina preparazione iniettabile	1163
Fenossimetilpenicillina compresse	1163
Fenossimetilpenicillina granulato per soluzione orale	1164
Ferroso solfato compresse rivestite	1165
Fisostigmina preparazione iniettabile	1166
Fluoresceina collirio soluzione	1167
Fruttosio infusione endovenosa	1167
Ftalilsulfatiazolo compresse	1168
Furosemide compresse	1169
Furosemide preparazione iniettabile	1170

G

Gel base per preparazione semisolida per applicazione cutanea	1171
Gentamicina preparazione iniettabile	1171
Glicerolo gel	1172
Glicerolo soluzione rettale	1173
Glicerolo supposte	1174
Glicerolo con sodio cloruro infusione endovenosa	1174
Glicerolo unguento	1175
Glicina soluzione per irrigazione	1176
Glicina e mannitolo soluzione per irrigazione	1176
Glucosio gel oftalmico	1177
Glucosio preparazioni parenterali	1178
Glucosio con potassio cloruro infusione endovenosa	1178
Glucosio con sodio cloruro infusione endovenosa	1180
Griseofulvina compresse	1181

I

Ictammolo gocce auricolari soluzione	1182
Ictammolo unguento	1182
Ictammolo unguento emulsionante	1183
Idroclorotiazide compresse	1184
Idrocortisone preparazione oftalmica semisolida	1185
Idrocortisone preparazione semisolida per applicazione cutanea	1186
Idrocortisone e neomicina collirio sospensione	1187
Idrocortisone e neomicina preparazione oftalmica semisolida	1188
Idrocortisone e neomicina preparazione semisolida per applicazione cutanea	1189
Idroxocobalamina preparazione iniettabile	1190
Imipramina compresse rivestite	1192
Iodio soluzione cutanea	1193
Iodio soluzione orale	1194
Iodio unguento	1194
Iodio e acido salicilico soluzione cutanea	1195
Iodio e glicerolo soluzione	1196
Ipecacuana sciroppo emetico	1196
Isoniazide compresse	1197
Isoniazide sciroppo	1198
Isoprenalina preparazione iniettabile	1198

L

Lidocaina preparazione iniettabile	1199
Lidocaina preparazione semisolida per applicazione cutanea	1199
Lidocaina e idrocortisone preparazione semisolida per applicazione cutanea	1200
Litio carbonato capsule	1201
Litio carbonato compresse	1202

M

Macrogol unguento base	1202
Macrogol cetostearile etere crema e unguento base	1203
Magnesio carbonato e acido citrico compresse	1203
Magnesio carbonato e acido citrico granulato effervescente per soluzione orale	1204
Magnesio carbonato e acido citrico polvere per soluzione orale	1204
Magnesio cloruro concentrato sterile	1205

Magnesio idrossido compresse masticabili	1206
Magnesio solfato concentrato sterile	1206
Mannitolo infusione endovenosa	1207
Mannitolo e sodio cloruro infusione endove- nosa	1208
Mannitolo e sorbitolo soluzione per irrigazione	1209
Mentolo polvere cutanea	1210
Mentolo composto soluzione per suffumigi	1210
Merbromina soluzione cutanea	1211
Mercurio ossido giallo preparazione oftalmica semisolida	1211
Metadone sciroppo	1212
Metile salicilato unguento	1213
Metilprednisolone compresse	1213
Metilosanilinio cloruro soluzione cutanea	1215
Metiltioninio soluzione cutanea	1216
Metiltioninio preparazione iniettabile	1216
Metronidazolo compresse	1217
Metronidazolo compresse vaginali	1218
Mirra e ratania soluzione gengivale	1219
Morfina cloridrato preparazione iniettabile . . .	1219
Morfina cloridrato sciroppo	1220
Morfina solfato compresse	1221
Morfina cloridrato e atropina preparazione iniettabile	1222

N

Nafazolina collirio soluzione	1223
Naloxone preparazione iniettabile	1224
Neomicina collirio soluzione	1225
Neomicina preparazione oftalmica semisolida .	1225
Niaouli essenza gocce nasali	1226
Niaouli essenza e mentolo gocce nasali	1227
Nicotinamide compresse	1228
Nistatina compresse rivestite	1229
Nistatina sciroppo	1229
Nitrofuril compresse vaginali	1230
Nitrofurantoina compresse	1230
Nitrofurantoina sciroppo	1231
Nitroglicerina compresse sublinguali	1232
Noradrenalina concentrato per soluzione iniet- tabile	1233

O

Olio di ricino capsule	1234
Omatropina collirio soluzione	1234

P

Papaverina preparazione iniettabile	1235
Paracetamolo compresse	1236
Paracetamolo sciroppo	1236
Paracetamolo supposte	1237
Paraffina liquida emulsione	1238
Pentamidina preparazione iniettabile	1239
Petidina preparazione iniettabile	1240
Pilocarpina collirio soluzione	1241
Pilocarpina preparazione oftalmica semisolida	1242
Pino composto soluzione per suffumigi	1242
Piperazina capsule	1243
Pirimetamina compresse	1243
Potassio acetato concentrato sterile	1244
Potassio cloruro concentrato sterile	1245
Potassio cloruro soluzione orale	1245
Potassio fosfato concentrato sterile	1246
Potassio fosfato monobasico compresse	1247
Potassio iodato compresse	1247
Potassio ioduro compresse	1248
Potassio ioduro gocce	1248
Potassio lattato concentrato sterile	1249
Potassio permanganato compresse per solu- zione cutanea	1249
Povidone-iodio soluzione cutanea	1250
Povidone-iodio unguento	1250
Primachina compresse rivestite	1251
Probenecid compresse	1251
Procainamide compresse	1252
Procainamide preparazione iniettabile	1253
Prometazina compresse rivestite	1253
Prometazina crema	1254
Propifenazone compresse	1255
Propifenazone supposte	1256

R

Reserpina compresse	1256
Rifampicina capsule	1257
Rifampicina sciroppo	1258
Ringer infusione endovenosa	1259
Ringer acetato infusione endovenosa	1260
Ringer lattato infusione endovenosa	1261

S

Saccarosio sciroppo	1262
Sali e glucosio polvere orale	1263
Scopolamina preparazione iniettabile	1264

Senna composta polvere orale	1265	Sulfadiazina compresse	1303
Sodio acetato concentrato sterile	1266	Sulfadiazina concentrato sterile	1304
Sodio bicarbonato compresse	1266	Sulfadimetoxina compresse	1304
Sodio bicarbonato concentrato sterile	1267	Sulfametopirazina compresse	1305
Sodio bicarbonato infusione endovenosa	1267	Sulfametopirazina sciroppo	1306
Sodio calcio edetato concentrato sterile	1268		
Sodio carbonato gocce auricolari	1269	T	
Sodio citrato compresse	1269	Teofillina-etilendiammina compresse rivestite	1306
Sodio citrato concentrato sterile	1269	Teofillina-etilendiammina preparazione inietta- bile	1307
Sodio citrato preparazione iniettabile	1270	Teofillina-etilendiammina supposte	1308
Sodio citrato e acido citrico preparazione iniet- tabile	1270	Tetracaina supposte	1309
Sodio cloruro concentrato sterile	1271	Tetraciclina cloridrato capsule	1309
Sodio cloruro gocce nasali soluzione	1272	Tetraciclina preparazione iniettabile	1311
Sodio cloruro preparazioni parenterali	1272	Tiabendazolo compresse	1312
Sodio edetato concentrato sterile	1273	Tiopentale sodico polvere sterile per prepara- zione iniettabile	1313
Sodio fluoruro compresse	1274	Tioridazina compresse rivestite	1314
Sodio fosfato soluzione rettale	1274	Tolbutamide compresse	1315
Sodio indigotindisolfonato preparazione iniet- tabile	1275	Trifluoperazina compresse rivestite	1316
Sodio lattato concentrato sterile	1276		
Sodio nitroprussiato concentrato sterile	1276	V	
Sodio nitroprussiato preparazione iniettabile	1277	Valeriana capsule	1317
Sodio salicilato compresse gastroresistenti	1278	Vaselina e lanolina unguento base	1317
Sodio stibogluconato preparazione iniettabile	1279	Vitamine B compresse rivestite	1318
Sodio tiosolfato concentrato sterile	1279		
Sodio tiosolfato infusione endovenosa	1280	Z	
Soluzione per circolazione extracorporea	1281	Zinco ossido pasta cutanea	1319
Soluzione polialinica con potassio concentrato sterile	1282	Zinco ossido polvere cutanea	1319
Soluzione polialinica senza potassio concen- trato sterile	1283	Zinco ossido sospensione cutanea	1320
Soluzioni anticoagulanti e conservanti per il sangue umano	1285	Zinco ossido unguento	1320
Soluzioni per dialisi peritoneale	1289	Zinco ossido composto polvere cutanea	1321
Soluzioni per emodialisi	1292	Zinco ossido e acido salicilico pasta cutanea	1321
Soluzioni per emofiltrazione e per emodiafiltra- zione	1295	Zinco ossido e glicerolo pasta cutanea	1322
Soluzioni per la conservazione degli organi	1299	Zinco ossido e olio di mandorla unguento	1323
Streptomicina preparazione iniettabile	1300	Zinco solfato collirio soluzione	1323
Sulfacetamide collirio soluzione	1301	Zinco solfato compresse	1324
Sulfacetamide preparazione oftalmica semiso- lida	1302	Zolfo e acido salicilico unguento	1324
		Zolfo e potassio carbonato unguento	1325

ACIDO ACETILSALICILICO COMPRESSE

Le compresse di acido acetilsalicilico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di acido acetilsalicilico contengono *Acido acetilsalicilico* in adeguati eccipienti.

Contenuto di acido acetilsalicilico ($C_9H_8O_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme, inodori o con lieve odore di acido acetico.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Far bollire una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, per circa 5 min con 10 ml di *sodio carbonato soluzione R* e filtrare. Lasciar raffreddare e al filtrato aggiungere un eccesso di *acido solforico diluito R*; si forma un precipitato bianco di acido salicilico e si manifesta un netto odore di acido acetico.
- B. Aggiungere 50 ml di *acqua R* ad una quantità di polvere corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico; far bollire per 5 min e filtrare. Al filtrato aggiungere 2 gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*; si sviluppa una colorazione rosso-violetta.

SAGGI

Acido salicilico. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 25 ml di *alcool R*. Agitare per alcuni minuti, diluire a 100 ml con *acqua R* e filtrare immediatamente. Trasferire 20 ml del filtrato in un cilindro graduato munito di tappo a smeriglio e aggiungere 0,05 ml di una soluzione (5 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*. Dopo 1 min la soluzione ottenuta non deve essere più intensamente colorata di una soluzione di riferimento, preparata aggiungendo 2 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *acido salicilico R* in *alcool R* a 3 ml di *alcool R*, 0,1 ml di *acido acetico R*, 15 ml di *acqua R* e 0,05 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 30 ml di *sodio idrossido 0,5 M*; far bollire per 10 min e titolare l'eccesso di alcali con *acido cloridrico 0,5 M* usando come indicatore *rosso fenolo soluzione R*. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni eseguire una titolazione in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,5 M* equivale a 45,04 mg di $C_9H_8O_4$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 100 mg o 500 mg di acido acetilsalicilico.

ACIDO ACETILSALICILICO COMPRESSE GASTRORESISTENTI

Le compresse gastroresistenti di acido acetilsalicilico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse gastroresistenti di acido acetilsalicilico contengono *Acido acetilsalicilico* in adeguati eccipienti.

Contenuto di acido acetilsalicilico ($C_9H_8O_4$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse di aspetto uniforme, inodori o con lieve odore di acido acetico.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Far bollire una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, per circa 5 min con 10 ml di *sodio carbonato soluzione R* e filtrare. Lasciar raffreddare e al filtrato aggiungere un eccesso di *acido solforico diluito R*; si forma un precipitato bianco di acido salicilico e si manifesta un netto odore di acido acetico.
- B. Aggiungere 50 ml di *acqua R* ad una quantità di polvere corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico; far bollire per 5 min e filtrare. Al filtrato aggiungere 2 gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*; si sviluppa una colorazione rosso-violetta.

Acido acetilsalicilico e codeina fosfato compresse

SAGGI

Acido salicilico. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 25 ml di *alcool R*. Agitare per alcuni minuti, diluire a 100 ml con *acqua R* e filtrare immediatamente. Trasferire 20 ml del filtrato in un cilindro graduato munito di tappo a smeriglio e aggiungere 0,05 ml di una soluzione (5 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*. Dopo 1 min la soluzione ottenuta non deve essere più intensamente colorata di una soluzione di riferimento, preparata aggiungendo 2 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *acido salicilico R* in *alcool R* a 3 ml di *alcool R*, 0,1 ml di *acido acetico R*, 15 ml di *acqua R* e 0,05 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 30 ml di *sodio idrossido 0,5 M*; far bollire per 10 min e titolare l'eccesso di alcali con *acido cloridrico 0,5 M* usando come indicatore *rosso fenolo soluzione R*. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni eseguire una titolazione in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,5 M* equivale a 45,04 mg di $C_9H_8O_4$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse gastroresistenti contengono 500 mg di acido acetilsalicilico.

ACIDO ACETILSALICILICO E CODEINA FOSFATO COMPRESSE

Le compresse di acido acetilsalicilico e codeina fosfato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di acido acetilsalicilico e codeina fosfato contengono *Acido acetilsalicilico* e *Codeina fosfato sesquidrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di acido acetilsalicilico ($C_9H_8O_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di codeina fosfato sesquidrato ($C_{18}H_{24}NO_7P \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- Far bollire una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, per circa 5 min con 10 ml di *sodio carbonato soluzione R* e filtrare. Lasciar raffreddare e aggiungere al filtrato un eccesso di *acido solforico diluito R*. Si forma un precipitato bianco di acido salicilico.
- Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 50 ml di *acqua R*: far bollire per 5 min e filtrare. Aggiungere al filtrato 2 gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*: si sviluppa una colorazione rosso-violetto.
- Agitare 1 g circa di polvere con una miscela di 20 ml di *acqua R* e di 1 ml di *acido solforico diluito R* per 5 min e filtrare. Alcalinizzare il filtrato con *ammoniaca diluita R1* ed estrarre con *cloroformio R*. Seccare lo strato cloroformico separato su *sodio solfato anidro R*, filtrare ed evaporare a secco. Aggiungere ad una porzione di residuo, posta su una capsula, una goccia di *acido nitrico R*; si sviluppa una colorazione gialla.
- Disciogliere 10 mg circa di residuo, ottenuto come descritto nella reazione di identificazione C, in 1 ml di *acido solforico R*, aggiungere 0,05 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2* e scaldare lentamente a b.m.; si sviluppa una colorazione violetto-bluastro che vira al rosso dopo aggiunta di 0,05 ml di *acido nitrico diluito R*.
- Agitare una quantità di polvere con una quantità proporzionata di *acqua R* e filtrare. Il filtrato dà la reazione caratteristica degli alcaloidi e dei fosfati (2.3.1).

SAGGI

Acido salicilico. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 25 ml di *alcool R*. Agitare per alcuni minuti, diluire a 100 ml con *acqua R* e filtrare immediata-

mente. Trasferire 20 ml del filtrato in un cilindro graduato munito di tappo a smeriglio e aggiungere 0,05 ml di una soluzione (5 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*. Dopo 1 min la soluzione ottenuta non deve essere più intensamente colorata di una soluzione di riferimento, preparata aggiungendo 2 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *acido salicilico R* in *alcool R* con 3 ml di *alcool R*, 0,1 ml di *acido acetico R*, 15 ml di *acqua R* e 0,05 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse.

Acido acetilsalicilico. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 500 mg di acido acetilsalicilico, aggiungere 30 ml di *sodio idrossido 0,5 M*, far bollire per 10 min e titolare l'eccesso di alcali con *acido cloridrico 0,5 M* usando come indicatore *rosso fenolo soluzione R*. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni eseguire una titolazione in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,5 M* equivale a 45,04 mg di $C_9H_8O_4$.

Codeina fosfato. Trasferire quantitativamente in imbuto separatore una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 20 mg di codeina fosfato sesquidrato. Aggiungere 15 ml di *acqua R*, 15 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* ed estrarre con 6 porzioni successive da 25 ml ciascuna di *cloroformio R*. Riunire le soluzioni cloroformiche in un unico imbuto separatore, lavare con 2 porzioni ciascuna di 5 ml di *acqua R* e filtrare attraverso cotone imbevuto di *cloroformio R*. Seccare su *sodio solfato anidro R* ed evaporare il solvente a b.m. Aggiungere al residuo 25 ml di *acido acetico anidro R* e titolare con *acido perclorico 0,01 M* usando come indicatore *crystal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,01 M* equivale a 4,244 mg di $C_{18}H_{24}NO_7P \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 250 mg di acido acetilsalicilico e 10 mg di codeina fosfato sesquidrato.

ACIDO ASCORBICO COMPRESSE

Le compresse di acido ascorbico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di acido ascorbico contengono *Acido ascorbico* in adeguati eccipienti.

Contenuto di acido ascorbico ($C_6H_8O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme e di sapore acido.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare una opportuna quantità di compresse.

- A. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 0,1 g di acido ascorbico, con 20 ml di *acqua R* e diluire immediatamente a 100 ml con lo stesso solvente. A 10 ml di *acido cloridrico 0,1 M* aggiungere 1,0 ml della soluzione e diluire a 100 ml con *acqua R*. Misurare immediatamente l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 243 nm. L'assorbanza specifica a questo massimo è compresa tra 545 e 585.
- B. Agitare una quantità di polvere corrispondente a 1 g di acido ascorbico con 20 ml di *acqua R* e filtrare. Ad 1 ml di filtrato aggiungere 5 ml di *acqua R*, 1 goccia di una soluzione (50g/l), preparata di recente, di *sodio nitroprussiato R* in *acqua R* e 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*; aggiungere, infine, goccia a goccia 0,6-0,7 ml circa di *acido cloridrico R* ed agitare. La colorazione gialla vira al blu.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare non meno di 20 compresse. Pesare esattamente una quantità di polvere, corrispondente a circa 200 mg di acido ascorbico. Agitare con una miscela di 80 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* e 25 ml di *acido solforico diluito R*. Aggiungere 1 ml di *amido soluzione R*. Titolare con *iodio 0,05 M* fino a che compare un colore blu-violetto persistente.

1 ml di *iodio 0,05 M* equivale a 8,81 mg di $C_6H_8O_6$.

Acido borico soluzione cutanea

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di acido ascorbico.

ACIDO BORICO BAGNO OCULARE

Bagno oculare, soluzione

Il bagno oculare di acido borico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163)

DEFINIZIONE

Il bagno oculare di acido borico è una soluzione sterile che ha la seguente composizione:

<i>Acido borico</i>	1,00 g
<i>Borace</i>	0,35 g
<i>Zinco solfato</i>	0,05 g
<i>Acqua depurata q.b a</i>	100 g

Può contenere un idoneo antimicrobico.

Contenuto di acido borico totale (H_3BO_3): non meno dell'1,165 per cento e non più dell'1,288 per cento.

Contenuto di zinco solfato ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$): non meno dello 0,0475 per cento e non più dello 0,0525 per cento.

CARATTERI

Liquido limpido ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Evaporare 2 ml di preparazione in esame in una capsula di porcellana; disciogliere il residuo in 5 ml di *metanolo R* riscaldando leggermente, aggiungere 0,1 ml di *acido solforico R* e far ardere. La soluzione brucia con fiamma verde ai bordi.
- La soluzione dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso fra 7,0 e 7,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Acido borico totale. A 100 ml di preparazione in esame aggiungere 15 g di *mannitolo R*. Titolare con *sodio idrossido 1 M* usando come indicatore *fenolftaleina soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 61,8 mg di H_3BO_3 .

Zinco solfato. A 100 ml di preparazione in esame aggiungere 10 ml di *tampone soluzione a pH 10,9 R* e 50 mg circa di *nero mordente 11 miscela composta R*. Titolare con *sodio edetato 0,01 M* fino al viraggio dal violetto a blu.

1 ml di *sodio edetato 0,01 M* equivale a 2,875 mg di $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce.

ACIDO BORICO SOLUZIONE CUTANEA

Acqua borica

La soluzione cutanea di acido borico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di acido borico contiene *Acido borico* in *Acqua depurata*.

Contenuto di acido borico (H_3BO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Può contenere un idoneo antimicrobico.

CARATTERI

Liquido limpido ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

A 3,0 ml di preparazione in esame aggiungere 5 ml di *metanolo R* e mescolare. Aggiungere cautamente 0,1 ml di *acido solforico concentrato R* e far ardere. La soluzione brucia con fiamma verde ai bordi.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,0 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In una beuta da 250 ml introdurre circa 30 ml di *glicerolo 85 per cento R*, precedentemente neutralizzato con *sodio idrossido 0,1 M* in presenza di *fenolftaleina soluzione RI*. Aggiungere 50 g, esattamente pesati, di preparazione in esame. Titolare con *sodio idrossido 1 M* in presenza di *fenolftaleina soluzione RI* fino a comparsa del colore rosa.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 61,8 mg di H_3BO_3 .

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso:

– il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

La soluzione cutanea contiene il 3,0 per cento m/m di acido borico.

ACIDO BORICO UNGUENTO

Vaselina borica (unguento)

L'unguento di acido borico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di acido borico contiene *Acido borico* in *Vaselina bianca*.

Contenuto di acido borico (H_3BO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento bianco, omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

A 5 g di preparazione in esame aggiungere 20 ml di *acqua R*. Scaldare a b.m. agitando per 10 min. Raffreddare, filtrare ed evaporare a secco la soluzione acquosa ottenuta. Disciogliere il residuo, scaldando leggermente, con 5 ml di *metanolo R*, aggiungere 0,1 ml di *acido solforico R* e far ardere. La soluzione brucia con fiamma verde ai bordi.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare esattamente circa 5 g di preparazione in esame ed introdurla in una beuta a collo largo da 250 ml. Aggiungere 30 ml di soluzione di *glicerolo 85 per cento R*, precedentemente neutralizzato con *sodio idrossido 0,1 M* in presenza di *fenolftaleina soluzione RI*. Scaldare a b.m. fino a completa fusione. Filtrare. Lavare la beuta con 20 ml di *glicerolo 85 per cento R* precedentemente neutralizzato con *sodio idrossido 0,1 M* in presenza di *fenolftaleina soluzione RI*. Scaldare a b.m. Filtrare. Unire le soluzioni ottenute dalla filtrazione e titolare immediatamente con *sodio idrossido 0,1 M* in presenza di 1 ml di *fenolftaleina soluzione RI*, fino a comparsa del colore rosa.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 6,18 mg di H_3BO_3 .

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce e lontano da fonti di calore.

L'unguento contiene il 3 per cento m/m di acido borico.

ACIDO ETACRINICO COMPRESSE

Le compresse di acido etacrinico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di acido etacrinico contengono *Acido etacrinico* in adeguati eccipienti.

Contenuto di acido etacrinico ($C_{13}H_{12}Cl_2O_4$): non meno del 93,0 per cento e non più del 107,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Trasferire una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a circa 50 mg di acido etacrinico, in un imbuto separatore contenente 25 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Estrarre con due porzioni successive da 40 ml di *diclorometano R*. Filtrare le fasi organiche e portare al volume di 100 ml con *diclorometano R* (soluzione 1).

- A. Evaporare a secco 10 ml di soluzione 1 e sciogliere il residuo in una miscela di 99 ml di *metanolo R* ed 1 ml di *acido cloridrico 1 M*. La soluzione ottenuta esaminata allo spettrofotometro (2.2.25) tra 230 nm e 350 nm, presenta un massimo di assorbimento a 270 nm circa ed un flesso a 285 nm.
- B. Evaporare a secco 50 ml di soluzione 1, scaldando leggermente. Disciogliere il residuo in 2 ml di *sodio idrossido 1 M* e scaldare a b.m. per 5 min. Raffreddare e aggiungere 0,25 ml di una soluzione al 50 per cento *V/V* di *acido solforico R*, 0,5 ml di una soluzione (100 g/l) di *acido cromotropico sale sodico R* e, con cautela, 2 ml di *acido solforico R*. Si sviluppa una intensa colorazione violetta.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Trasferire in un tubo da centrifuga una quantità esattamente pesata di compresse polverizzate, corrispondente a circa 400 mg di acido etacrinico, ed umettare con 2 ml di *acido cloridrico 1 M*. Dopo 15 min aggiungere 25 ml di *etere di petrolio R* e agitare per 2 min; centrifugare e scartare il liquido limpido. Ripetere il lavaggio con altri 25 ml *etere di petrolio R*. Eliminare l'etere di petrolio residuo in corrente di *azoto R* ed estrarre il residuo con due porzioni successive da 25 ml ciascuna di *diclorometano R*, centrifugando ogni volta per ottenere un estratto limpido. Evaporare a secco a 30 °C in corrente di *azoto R* gli estratti organici riuniti. Disciogliere il residuo ottenuto in *alcool R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1,5 ml della soluzione in esame a 100 ml con *alcool R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 0,5 ml della soluzione in esame a 100 ml con *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 20 volumi di *acido acetico glaciale R*, 50 volumi di *etile acetato R* e 60 volumi di *cloroformio R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (1,5 per cento) e non più di una di queste macchie è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (0,5 per cento).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Trasferire in un imbuto separatore, contenente 50 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, una quantità di polvere esattamente pesata e corrispondente a 250 mg di acido etacrinico ed estrarre con 4 porzioni successive da 50 ml ciascuna di *diclorometano R*. Filtrare le fasi organiche riunite ed evaporare a secco il filtrato, scaldando leggermente. Sciogliere il residuo in 100 ml di *metanolo R* ed aggiungere 5 ml di *acqua R*. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 30,31 mg di $C_{13}H_{12}Cl_2O_4$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 50 mg di acido etacrinico.

ACIDO LATTICO OVULI

Gli ovuli di acido lattico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni vaginali (1164).

DEFINIZIONE

Gli ovuli di acido lattico contengono *Acido lattico* in adeguati eccipienti.

Contenuto di acido lattico ($C_3H_6O_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Ovuli bianchi, compatti, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Disciogliere a caldo due ovuli in 50 ml di *acqua R*, raffreddare e filtrare. Il filtrato dà la reazione caratteristica dei lattati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e suddividere finemente non meno di 20 ovuli. Pesare esattamente una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 1,000 g di acido lattico e, utilizzando una beuta, discioglierla in 50 ml di *acqua R* calda e raffreddare. Aggiungere 20 ml di *sodio idrossido*

1 M, bollire leggermente per alcuni minuti e raffreddare. Titolare con *acido cloridrico 1 M*, utilizzando come indicatore 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R*, fino a scomparsa del colore rosa.

1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 90,1 mg di $C_3H_6O_3$.

CONSERVAZIONE

In appropriata confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Gli ovuli contengono 500 mg di acido lattico.

ACIDO NALIDIXICO COMPRESSE

Le compresse di acido nalidixico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di acido nalidixico contengono *Acido nalidixico* in adeguati eccipienti.

Contenuto di acido nalidixico ($C_{12}H_{12}N_2O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di compresse polverizzate corrispondente a circa 1 g di acido nalidixico, aggiungere 50 ml di *cloroformio R*, agitare per 15 min e filtrare. Il residuo ottenuto per evaporazione della soluzione ed essiccato a 105 °C soddisfa ai seguenti saggi.

- A. Punto di fusione (2.2.14): circa 230 °C.
- B. Disciogliere 12 mg circa di residuo in *sodio idrossido 0,01 M* e diluire con lo stesso solvente a 50 ml. Diluire 2,0 ml di questa soluzione a 50 ml con *sodio idrossido 0,01 M*. Esaminare tra 220 nm e 350 nm (2.2.25); la soluzione mostra due massimi di assorbimento a 258 nm e 334 nm. Il rapporto tra l'assorbanza misurata a 258 nm e l'assorbanza misurata a 334 nm è compreso tra 2,2 e 2,4.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 100 mg di acido nalidixico, con 50 ml di *cloroformio R* per 15 min. Filtrare, evaporare a secco; disciogliere il residuo in 5 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Diluire 1 ml della soluzione in esame a 200 ml con *cloroformio R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 70 volumi di *etanolo R*, 20 volumi di *cloroformio R* e 10 volumi di *ammoniaca diluita R1*. Lasciare asciugare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale, nessuna di esse deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 200 mg di acido nalidixico, aggiungere 150 ml di *sodio idrossido 1 M* agitare per 3 min e portare al volume di 200,0 ml con lo stesso solvente. Agitare, lasciare a riposo per 15 min e filtrare. Diluire 2,0 ml del filtrato a 200,0 ml con *acqua R* e determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione così ottenuta al massimo di assorbimento a 334 nm circa, usando come bianco *sodio idrossido 0,01 M*. Calcolare il contenuto di $C_{12}H_{12}N_2O_3$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 494.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di acido nalidixico.

ACIDO NALIDIXICO SCIROPPO

Lo sciroppo di acido nalidixico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di acido nalidixico contiene *Acido nalidixico* in adeguati eccipienti aromatizzati.

Acido salicilico soluzione cutanea

Contenuto di acido nalidixico ($C_{12}H_{12}N_2O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione che, al riposo, lascia decantare l'acido nalidixico in forma di massa bianca facilmente ridispersibile per agitazione.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità corrispondente a 300 mg circa di acido nalidixico, aggiungere 30 ml di *acqua R* e 20 ml di *sodio carbonato soluzione R*, agitare ed estrarre con 2 porzioni successive, ciascuna da 30 ml, di *diclorometano R*. Acidificare la fase acquosa con *acido cloridrico diluito R* ed estrarre con 40 ml di *diclorometano R*. Lavare l'estratto organico con una miscela di 10 ml di *acqua R* e 1 ml di *acido cloridrico diluito R*, filtrarlo ed evaporarlo a secco. Disciogliere il residuo in *sodio idrossido 0,1 M* in modo da ottenere una soluzione contenente circa 10 µg/ml. La soluzione, esaminata tra 230 nm e 350 nm (2.2.25) mostra due massimi di assorbimento a 258 nm e a 334 nm e due minimi a 238 nm e 290 nm. Il rapporto tra l'assorbanza misurata a 258 nm e l'assorbanza misurata a 334 nm è compreso tra 2,2 e 2,4.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità omogenea di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 120 mg circa di acido nalidixico, con *sodio idrossido 0,01 M* e portare al volume di 100,0 ml; diluire 2 ml di quest'ultima soluzione a 250,0 ml con lo stesso solvente. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione così ottenuta al massimo di assorbimento a 334 nm circa, usando come bianco *sodio idrossido 0,01 M*. Calcolare il contenuto di $C_{12}H_{12}N_2O_3$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 494.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene il 6 per cento m/V di acido nalidixico.

ACIDO SALICILICO SOLUZIONE CUTANEA

Acido salicilico soluzione idroalcolica

La soluzione cutanea di acido salicilico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di acido salicilico contiene *Acido salicilico* in etanolo al 70 per cento.

Contenuto di acido salicilico ($C_7H_6O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. A 2-3 ml di preparazione in esame aggiungere 2-3 gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*: si sviluppa una colorazione rosso-violetta che permane per aggiunta di alcune gocce di *acido acetico glaciale R*, ma scompare per aggiunta di *acido cloridrico R*.
- B. A 2-3 ml di preparazione in esame aggiungere con cautela 2-3 gocce di *acido solforico R* e 2-3 gocce di *potassio dicromato soluzione R*: si ottiene una colorazione verde e si svolge odore di acetaldeide.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In un recipiente da 100 ml pesare 20 g circa di preparazione in esame e diluire con 20 ml di *acqua R*. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore *rosso fenolo soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 13,81 mg di $C_7H_6O_3$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dal calore.

La soluzione cutanea contiene l'1 o il 2 per cento m/m di acido salicilico.

ACIDO SALICILICO SOLUZIONE CUTANEA OLEOSA

La soluzione cutanea oleosa di acido salicilico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea oleosa di acido salicilico contiene *Acido salicilico* in *Trigliceridi saturi a catena media*; può essere eventualmente aggiunto *Olio di ricino*.

Contenuto di acido salicilico ($C_7H_6O_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: disciogliere l'*Acido salicilico* nei *Trigliceridi saturi a catena media*, riscaldando a b.m. bollente per non più di 5 min. Nelle preparazioni a più alta concentrazione di acido salicilico, aggiungere l'*Olio di ricino* ai trigliceridi saturi a catena media. Evitare riscaldamenti prolungati.

CARATTERI

Liquido oleoso, incolore o leggermente giallo.

IDENTIFICAZIONE

Mescolare 2-3 g di preparazione in esame, a b.m., con 50 ml di *acqua R*. Lasciar raffreddare e filtrare. Aggiungere al filtrato alcune gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*. Si sviluppa una colorazione violetta che persiste dopo aggiunta di 0,1 ml di *acido acetico glaciale R*. La colorazione scompare per aggiunta di *acido cloridrico R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare 10 g circa di preparazione in esame ed aggiungere 40 ml di *alcool R* previamente neutralizzato usando come indicatore *rosso fenolo R*. Scaldare per 5 min agitando frequentemente. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, usando come indicatore *rosso fenolo soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 13,81 mg di $C_7H_6O_3$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce e dal calore.

La soluzione cutanea contiene il 2, il 5 o il 10 per cento m/m di acido salicilico.

ACIDO SALICILICO UNGUENTO

L'unguento di acido salicilico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di acido salicilico contiene *Acido salicilico* disperso in *Vaselina bianca*.

Contenuto di acido salicilico ($C_7H_6O_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento omogeneo, filante, di consistenza pastosa.

IDENTIFICAZIONE

Trattare a caldo alcuni grammi di preparazione in esame con *alcool R*. Raffreddare e filtrare. Evaporare l'alcool a b.m. e riprendere il residuo con *acqua R* calda. Aggiungere alla soluzione alcune gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*: si sviluppa una colorazione rosso-violetta che permane per aggiunta di *acido acetico glaciale R*. La colorazione scompare per aggiunta di *acido cloridrico R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare 10 g circa di preparazione in esame ed aggiungere 40 ml di *alcool R* precedentemente neutralizzato usando come indicatore *rosso fenolo soluzione R*. Scaldare per 5 min agitando frequentemente. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, in presenza di *rosso fenolo soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 13,81 mg di $C_7H_6O_3$.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dal calore.

L'unguento contiene il 2, il 5 o il 10 per cento m/m di acido salicilico.

ACIDO SALICILICO E RESORCINOLO SOLUZIONE CUTANEA

Acido salicilico composto soluzione idroalcoolica

La soluzione cutanea di acido salicilico e resorcinolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di acido salicilico e resorcinolo ha la seguente composizione:

<i>Acido salicilico</i>	1 g
<i>Resorcinolo</i>	1 g
<i>Etanolo 96 per cento</i>	66,2 g
<i>Acqua depurata</i>	31,8 g

Può contenere antiossidanti.

Preparazione: disciogliere l'*Acido salicilico* ed il *Resorcinolo* nell'*Etanolo 96 per cento* ed aggiungere, quindi, *Acqua depurata* bollita di recente. Filtrare, se necessario.

CARATTERI

Liquido limpido, da incolore a rosa pallido, di odore caratteristico di fenolo e di alcool.

IDENTIFICAZIONE

- A. A 3 ml di preparazione in esame aggiungere 0,5 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1*. Si sviluppa una colorazione violetta che persiste dopo aggiunta di 0,1 ml di *acido acetico glaciale R*. La colorazione scompare per aggiunta di *acido cloridrico R*.
- B. A 3 ml di preparazione in esame aggiungere alcune gocce di *sodio idrossido soluzione concentrata R* ed alcune gocce di *cloroformio R*; scaldare e lasciare raffreddare. Si sviluppa una colorazione rosso scura che vira al giallo pallido per aggiunta di un leggero eccesso di *acido cloridrico R*.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso:

- il nome di ogni antiossidante aggiunto.

ACIDO TRICLOROACETICO SOLUZIONE CUTANEA

La soluzione cutanea di acido tricloroacetico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di acido tricloroacetico contiene *Acido tricloroacetico* in *Acqua depurata*.

Contenuto di acido tricloroacetico ($C_2HCl_3O_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione acquosa è fortemente acida (2.2.4).
- B. A 5 ml di preparazione in esame aggiungere 2 ml di *piridina R* e 5 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Agitare energicamente e scaldare a b.m. a 60-70 °C per 5 min. Lo strato superiore ha un'intensa colorazione rossa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In un recipiente da 100 ml introdurre 0,5 ml di preparazione in esame e diluire a 20 ml con *acqua R*. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 16,34 mg di $C_2HCl_3O_2$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

La soluzione cutanea contiene il 50 per cento m/m di acido tricloroacetico.

ADRENALINA COLLIRIO SOLUZIONE

Epinefrina collirio

Il collirio soluzione di adrenalina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di adrenalina contiene *Adrenalina* in una soluzione isotonica sterile con adeguati eccipienti.

Contenuto di adrenalina ($C_9H_{13}NO_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Diluire un volume di preparazione, corrispondente a 20 mg circa di adrenalina, a 500 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. Esaminata allo spettrofotometro tra 210 nm e 350 nm (2.2.25), la soluzione mostra un massimo di assorbimento a 279 nm circa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,2 e 4,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a 10 mg circa di adrenalina, a 100 ml con *acqua R* e diluire 5,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento contenente 5 µg/ml di *adrenalina SCR* in *acqua R*. A 1,0 ml di ciascuna soluzione, aggiungere rispettivamente e nell'ordine seguente, 10 ml di *acqua R*, 5 ml di una soluzione (272 g/l) di *sodio acetato R*, 0,5 ml di una soluzione (5,0 g/l) di *potassio ferricianuro R* e, dopo 2 min esatti dall'ultima aggiunta, 10 ml di *sodio idrossido 5 M* e 1 ml di una soluzione (25 g/l) di *acido isoascorbico R*. Misurare l'intensità di fluorescenza delle due soluzioni con eccitazione a 410 nm e l'emissione a 510 nm, usando *acqua R* come bianco. Per determinare eventuali fluorescenze estranee ripetere le letture fluorimetriche su campioni delle due soluzioni di partenza, sottoposti allo stesso trattamento ma aggiungendo la soluzione di acido isoascorbico 10 min dopo l'aggiunta dei 10 ml di *sodio idrossido 5 M* ed effettuando la lettura finale 10 min dopo l'aggiunta dell'acido isoascorbico. La differenza tra le prime e le seconde letture, rappresenta le intensità fluorimetriche effettive dovute all'adrenalina. Determinare il contenuto di $C_9H_{13}NO_3$ tenendo conto delle intensità di fluorescenza e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- non usare se la soluzione è scura o se contiene un precipitato
- da usare entro 15 giorni dopo la prima apertura del contenitore.

Il collirio soluzione contiene l'1 per cento m/V di adrenalina.

ADRENALINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Adrenalina fiale

La preparazione iniettabile di adrenalina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di adrenalina è una soluzione sterile ed apirogena avente le seguenti composizioni:

<i>Adrenalina</i>	0,5	mg	1	mg
<i>Sodio cloruro</i>	8	mg	8	mg
<i>Acido cloridrico 1 M</i>	0,005	ml	0,01	ml
<i>Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a</i>	1	ml	1	ml

Può contenere un antiossidante.

Contenuto di adrenalina ($C_9H_{13}NO_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Ad un volume di soluzione corrispondente a circa 0,5 mg di adrenalina aggiungere 5 ml di *acqua R* e una goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*. Si ottiene una colorazione verde smeraldo che vira all'azzurro e, per aggiunta di alcune gocce di *sodio bicarbonato soluzione R*, al rosso.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,5 e 3,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 175 U.I. di endotossina per millilitro di soluzione allo 0,05 per cento m/V di adrenalina.

Alcool saponato soluzione cutanea

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire un volume di soluzione esattamente misurato e corrispondente a 1 mg di adrenalina, a 50,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta, al massimo di assorbimento a 279 nm circa, usando come bianco *acido cloridrico 0,01 M*. Calcolare il contenuto di $C_9H_{13}NO_3$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 150.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indicata inoltre:

- soluzione da non utilizzare se non è incolore

ALCOOL SAPONATO SOLUZIONE CUTANEA

La soluzione cutanea di alcool saponato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di alcool saponato si ottiene sottoponendo ad idrolisi una miscela avente la seguente composizione:

<i>Olio di oliva vergine</i>	10,0 g
<i>Potassio idrossido</i>	2,1 g
<i>Etanolo 96 per cento</i>	50,5 g
<i>Acqua depurata q.b. a</i>	100 g

Contenuto in acidi grassi: non meno dell'8,5 per cento *m/m*.

Preparazione: disciogliere il *Potassio idrossido* in una miscela costituita da 5 g di *Acqua depurata* bollita di recente e da 10 g di *Etanolo 96 per cento*; aggiungere quindi l'*Olio di oliva vergine* e scaldare a 40 °C circa. A questa temperatura la miscela saponifica; si agita, evitando l'inglobamento di aria e la perdita di alcool per evaporazione. La saponificazione si considera terminata quando il preparato è limpido e dà soluzioni limpide sia in *acqua R* sia in *Etanolo 96 per cento*. Aggiungere infine la quantità rimanente di *Etanolo 96 per cento* e portare a peso con *Acqua depurata*. Lasciare a riposo per 24 h e filtrare se necessario.

CARATTERI

Liquido limpido, di colore giallo, che, mescolato con acqua, produce, per agitazione, un'abbondante schiuma.

IDENTIFICAZIONE

- A 5 ml di preparazione aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R*. Si forma un precipitato bianco voluminoso che per riscaldamento a b.m. stratifica in superficie, al di sopra della fase acquosa, come uno strato oleoso giallo.
- Filtrare a freddo, attraverso un filtro bagnato, la miscela ottenuta nella reazione di identificazione A. Il filtrato dà la reazione caratteristica (2.3.1) del potassio.
- A 5,0 ml di preparazione aggiungere 0,1 ml di *fenoltaleina soluzione R* e 0,3 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. La soluzione non presenta alcuna colorazione.

SAGGI

Densità relativa (2.2.5). $0,920 \pm 0,010$.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinazione degli acidi grassi e delle sostanze insaponificabili. Pesare esattamente 25 g circa di preparazione. Acidificare con *acido cloridrico 6 M* ed estrarre di continuo per 2 h a ricadere con *esano R*. Raffreddare la fase organica, portare a secco mediante evaporatore rotante, ed essiccare a 80 °C per 30 min, fino a peso costante. Pesare il residuo che è costituito dagli acidi grassi e dalle sostanze insaponificabili.

Determinazione delle sostanze insaponificabili (2.5.7). Utilizzare 50 g di preparazione, trascurando la fase di saponificazione iniziale prevista nel metodo.

Determinare il contenuto di acidi grassi dalla differenza dei risultati delle due determinazioni.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

ALCOOLI DI LANOLINA CREMA E UNGUENTO BASE

Lanolina alcoli crema, unguento base

La crema e l'unguento base di alcoli di lanolina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento base ha la seguente composizione:

<i>Alcoli di lanolina</i>	6	g
<i>Alcol cetostearilico</i>	0,5	g
<i>Vaselina bianca</i>	93,5	g

Può contenere antiossidanti.

Preparazione: fondere insieme i componenti a mite calore, agitando sino a raffreddamento.

Per preparare la crema base fondere insieme i componenti a mite calore, aggiungere gradualmente *Acqua depurata* (in rapporto 1:1) bollita di recente e alla stessa temperatura, agitando costantemente. Mescolare vigorosamente fino ad ottenere una crema, continuando ad agitare fino a raffreddamento e reintegrando l'acqua eventualmente evaporata.

La crema base si può preparare anche da 50 g di unguento base, incorporandovi a porzioni e sotto continua e vigorosa agitazione 50 g di *Acqua depurata*.

Parte della *Vaselina bianca* può essere sostituita con *Paraffina solida* o *Paraffina liquida* per variare la consistenza della massa.

CARATTERI

L'unguento base è un preparato semisolido, omogeneo, giallo o giallo pallido.

La crema base è un preparato semisolido, omogeneo, quasi bianco.

IDENTIFICAZIONE

Disciogliere 0,5 g di base in 5 ml di *cloroformio R*, aggiungere 1 g di *sodio solfato anidro R* ed agitare. Aggiungere 1 ml di *anidride acetica R* e 0,1 ml di *acido solforico R*. Si sviluppa una colorazione verde smeraldo.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce, al riparo da fonti di calore.

ALLOPURINOLO COMPRESSE

Le compresse di allopurinolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di allopurinolo contengono *Allopurinolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di allopurinolo ($C_5H_4N_4O$): non meno del 93,0 per cento e non più del 107,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione, preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 250 nm ed un minimo a 231 nm. Il rapporto tra l'assorbanza misurata al minimo a 231 nm e l'assorbanza misurata al massimo a 250 nm è compreso tra 0,52 e 0,62.
- Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere corrispondente a circa 100 mg di allopurinolo con 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Aggiungere 3 ml di *fosfomolibdotungstico reattivo R* e 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio carbonato R*: si sviluppa una colorazione grigio-blu.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Alluminio ossido idrato compresse masticabili

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse ed agitare una quantità di polvere, corrispondente a 0,250 g di allopurinolo, con 10 ml di una soluzione (100 g/l) di *dietilammina R* e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 mg di *allopurinolo impurezza A SCR* in *ammoniaca concentrata R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 20 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 20 volumi di *etilenglicole etere monometilico R* e 60 volumi di *etilmetilchetone R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (0,2 per cento).

Dissoluzione. Utilizzare l'apparecchio ad agitatore a paletta (2.9.3). Il liquido di dissoluzione è costituito da 900 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. La velocità di rotazione è regolata a 75 giri al minuto. Dopo 45 min prelevare 10 ml di liquido, diluire, se necessario, con il liquido di dissoluzione; dopo eventuale filtrazione misurare l'assorbanza a 250 nm. Calcolare la quantità di allopurinolo disciolta nel liquido di dissoluzione dal valore dell'assorbanza specifica dell'allopurinolo, determinato su una soluzione di *allopurinolo SCR* opportunamente diluita, nello stesso liquido di dissoluzione, usando questo come bianco. Non meno del 75 per cento della quantità dichiarata deve disciogliersi entro 45 min.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata, e corrispondente a circa 100 mg di allopurinolo, aggiungere 20 ml di *sodio idrossido 0,05 M* e agitare per 15 min. Portare al volume di 100 ml con *acido cloridrico 0,1 M*, agitare e filtrare. Diluire 1 ml a 100 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. Misurare l'assorbanza della soluzione ottenuta, al massimo di assorbimento a 250 nm circa, utilizzando *acido cloridrico 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_5H_4N_4O$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 563.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 100 mg di allopurinolo.

ALLUME COMPOSTO POLVERE PER SOLUZIONE CUTANEA

La polvere per soluzione cutanea di allume composto soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per applicazione cutanea (1166).

DEFINIZIONE

La polvere per soluzione cutanea di allume composto ha la seguente composizione:

<i>Allume</i>	10	g
<i>Sodio carbonato monoidrato</i>	60	g
<i>Sodio bicarbonato</i>	30	g
<i>Timo essenza</i>		q.b.

Preparazione: polverizzare finemente le polveri e mescolarle. Estinguere il *Timo essenza* nella miscela delle polveri, mescolando accuratamente.

CARATTERI

Polvere bianca di aspetto omogeneo, di odore caratteristico di timolo.

IDENTIFICAZIONE

Disciogliere 2,5 g circa di preparazione in esame in 50 ml di *acqua R*. A 5 ml della soluzione aggiungere *acido cloridrico diluito R*, riscaldando leggermente fino a cessazione dell'effervescenza. La soluzione dà le reazioni caratteristiche dell'alluminio (2.3.1). Per aggiunta di 1 ml di *bario cloruro soluzione R1*, si forma un precipitato bianco di solfato di bario.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

ALLUMINIO OSSIDO IDRATO COMPRESSE MASTICABILI

Le compresse masticabili di alluminio ossido idrato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse masticabili di alluminio ossido idrato contengono *Alluminio ossido idrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di ossido di alluminio (Al_2O_3): non meno del 45 per cento della quantità di alluminio ossido idrato indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere, corrispondente a 250 mg di alluminio ossido idrato, aggiungere 20 ml di *acido cloridrico diluito R*, scaldare leggermente per 20 min e filtrare. Il filtrato dà la reazione caratteristica dell'alluminio (2.3.1).

Capacità neutralizzante. Effettuare il saggio a 37 °C. Polverizzare finemente alcune compresse. Disperdere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 500 mg di alluminio ossido idrato in 100 ml di *acqua R*, scaldare, aggiungere 100,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, precedentemente riscaldato a 37 °C, ed agitare continuamente. Il pH (2.2.3) della soluzione dopo 10 min, 15 min e 20 min non è inferiore a 1,8, 2,3 e 3,0 rispettivamente e non è mai superiore a 4,5. Aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,5 M*, precedentemente riscaldato a 37 °C, agitare continuamente per 1 h e titolare con *sodio idrossido 0,1 M* fino a pH 3,5; non sono necessari più di 35,0 ml di *sodio idrossido 0,1 M*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 800 mg di alluminio ossido idrato, aggiungere 10 ml di *acido cloridrico R1*, scaldando a b.m. Raffreddare, aggiungere 20 ml di *acqua R*. Filtrare, lavare il residuo con *acqua R* calda riunendo i filtrati e diluire a 50,0 ml con *acqua R*. A 10,0 ml della soluzione, aggiungere *ammoniaca diluita R1* fino a quando comincia a formarsi un precipitato. Aggiungere la più piccola quantità di *acido cloridrico diluito R* necessaria a disciogliere il precipitato e diluire a 20 ml con *acqua R*. Effettuare la titolazione complessometrica dell'alluminio (2.5.11).

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 5,098 mg di Al_2O_3 .

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 500 mg di alluminio ossido idrato.

ALLUMINIO OSSIDO IDRATO E MAGNESIO TRISILICATO COMPRESSE MASTICABILI

Le compresse di alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Ogni compressa masticabile di alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato contiene 250 mg di *Magnesio trisilicato* e 120 mg di *Alluminio ossido idrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di Mg: da 30 mg a 41 mg per compressa.

Contenuto di Al: da 28 mg a 40 mg per compressa.

CARATTERI

Compresse bianche di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa il peso medio di 2 compresse, aggiungere 20 ml di *acido cloridrico diluito R*, scaldare per 20 min circa e filtrare.

- Il residuo, essiccato, dà la reazione caratteristica dei silicati (2.3.1).
- Il filtrato dà la reazione caratteristica dell'alluminio (2.3.1).
- Il filtrato ottenuto dalla reazione di identificazione B, dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).

SAGGI

Capacità neutralizzante. Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di una compressa, aggiungere una piccola quantità di *acido cloridrico 0,1 M*, agitare energicamente e quindi diluire lentamente, agitando, a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Scaldare a b.m. a 37 °C per 2 h, agitando frequentemente. Raffreddare a temperatura ambiente. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20) usando *sodio idrossido 0,1 M* fino a pH 3,5. Non sono necessari più di 45 ml di *sodio idrossido 0,1 M*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse.

Alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato polvere per sospensione orale

Alluminio. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa il peso medio di 4 compresse, aggiungere 7 ml di *acido cloridrico R* e scaldare a b.m. per circa 5 min; aggiungere 50 ml di *acqua R*, filtrare, lavare il residuo con *acqua R* calda, riunire i filtrati e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Neutralizzare 25,0 ml con *sodio idrossido soluzione diluita R*, usando *rosso Congo cartina R* come indicatore e aggiungere 75 ml di *acqua R* e 50,0 ml di *sodio edetato 0,05 M*. Scaldare a b.m. per 30 min, raffreddare, aggiungere 3 g di *esamina R* e titolare l'eccesso di sodio edetato con *piombo nitrato 0,05 M* in presenza di *xilenolo arancio soluzione R*.

1 ml di *sodio edetato 0,05 M* equivale a 1,349 mg di Al.

Magnesio. A 25,0 ml della soluzione preparata per la determinazione dell'alluminio, aggiungere 1 g di *ammonio cloruro R* e 10 ml di *trietanolammina R* in modo da ridisciogliere completamente il precipitato che si forma inizialmente. Aggiungere poi 160 ml di *acqua R* e 5 ml di *tampone soluzione a pH 10,9 R*; titolare con *sodio edetato 0,05 M* in presenza di *nero mordente 11 soluzione R*, fino a viraggio al blu.

1 ml di *sodio edetato 0,05 M* equivale a 1,215 mg di Mg.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

ALLUMINIO OSSIDO IDRATO E MAGNESIO TRISILICATO POLVERE PER SOSPENSIONE ORALE

Antiacida composta polvere

La polvere per sospensione orale di alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per uso orale (1165).

DEFINIZIONE

La polvere per sospensione orale di alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato ha la seguente composizione:

<i>Magnesio trisilicato</i>	83 g
<i>Alluminio ossido idrato</i>	17 g

La miscela delle polveri mescolata accuratamente può essere aromatizzata.

Contenuto di magnesio (Mg): non meno del 10 per cento *m/m* e non più del 14,0 per cento *m/m*.

Contenuto di alluminio (Al): non meno del 4 per cento *m/m* e non più del 5,8 per cento *m/m*.

CARATTERI

Polvere bianca di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

- A 2 g di preparazione aggiungere 20 ml di *acido nitrico diluito R*, scaldare fino all'ebollizione, agitando di frequente; lasciare raffreddare e filtrare. Neutralizzare 1 ml del filtrato con *ammoniaca diluita RI*: si forma un precipitato bianco che si discioglie per aggiunta di 1 ml di *ammonio cloruro soluzione R*.
- Sospendere 0,6 g di preparazione in 5 ml di *acqua depurata R*, aggiungere 10 ml di *acido cloridrico 3 M*, 5 gocce di *rosso metile soluzione R* e scaldare fino ad ebollizione. Aggiungere *ammoniaca diluita RI* fino a che il colore della soluzione vira al giallo intenso, proseguire quindi l'ebollizione per 2 min e filtrare; il filtrato dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- Lavare il precipitato ottenuto nella reazione di identificazione A con *ammonio cloruro soluzione R* (1:50) calda. Aggiungere 10 ml di *acido cloridrico 3 M* e filtrare; il filtrato dà la reazione caratteristica dell'alluminio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Alluminio. Pesare in un becher tarato 1,00 g di polvere. Aggiungere 70 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R*; lasciar digerire per 1 h a b.m. Raffreddare, filtrare in un pallone tarato da 200 ml; lavare il filtro con *acqua R*, raccogliendo i lavaggi nel pallone contenente il filtrato. Portare a volume con *acqua R* e mescolare. Effettuare la titolazione complessometrica dell'alluminio (2.5.11).

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 5,098 mg di Al_2O_3 (2,70 mg di Al)

Magnesio. Pesare in un becher tarato 0,75 g di polvere. Aggiungere 7 ml di *acido cloridrico R* e 7 ml di *acqua R*, mescolare e scaldare a b.m. per 15 min, agitando di tanto in tanto. Aggiungere 30 ml di *acqua R* calda, mescolare e filtrare a caldo in un pallone tarato da 200 ml; lavare bene il filtro con *acqua R* calda, raccogliendo i lavaggi nel pallone contenente il filtrato. Raffreddare e diluire con 100 ml di *acqua R*. A 25 ml della soluzione aggiungere 1 g di *ammonio cloruro R* e *trietanolammina R* in quantità sufficiente a ridisciogliere il precipitato formatosi. Aggiungere 150 ml di *acqua R* e 5 ml di *tampone soluzione a pH 10,9 R*; titola-

lare immediatamente con *sodio edetato 0,05 M R*, usando come indicatore una soluzione (1 g/l) di *nero mordente 11 R* in *etanolo 96 per cento R*.

1 ml di *sodio edetato 0,05 M* equivale a 1,215 mg di Mg (2,015 mg di MgO).

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

ALOPERIDOLO COMPRESSE

Le compresse di aloperidolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di aloperidolo contengono *Aloperidolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di aloperidolo ($C_{21}H_{23}ClFNO_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Agitare una quantità di polvere corrispondente a circa 10 mg di aloperidolo con 20 ml di *acqua R* addizionata di 1 ml di *sodio idrossido 1 M* ed estrarre con 10 ml di *etere R*. Filtrare lo strato etero ed evaporare il filtrato a secco, a pressione ridotta. Il residuo fonde (2.2.14) tra 150 °C e 153 °C.
- B. La soluzione, preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 230 nm e 350 nm (2.2.25) mostra un solo massimo di assorbimento a 245 nm circa.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa. Trasferire la polvere in un pallone tarato da 50 ml, aggiungere 25 ml di *metanolo R* e scaldare all'ebollizione a b.m. Raffreddare, aggiungere 1 ml di *acido cloridrico 0,5 M*, diluire a volume con *metanolo R* e filtrare. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbi-

mento a 245 nm, utilizzando *metanolo R* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 340.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare alcune compresse. Aggiungere ad una quantità di polvere, corrispondente a 10 mg circa di aloperidolo, 10 ml di *cloroformio R*. Agitare e filtrare. Evaporare a secco il filtrato e disciogliere il residuo in 1 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1 volume della soluzione in esame a 200 volumi con *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 volume della soluzione in esame a 100 volumi con *cloroformio R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire in una vasca cromatografica per un percorso di 15 cm usando una miscela di 80 volumi di *diclorometano R*, 10 volumi di *acido acetico glaciale R* e 10 volumi di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione diluita R*. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale, una sola di esse può essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (a), ma non deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Scaldare all'ebollizione una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di 2 compresse, con 50 ml di *metanolo R* immergendo in un b.m. bollente e sotto agitazione. Raffreddare, aggiungere 1 ml di *acido cloridrico 1 M*, diluire a 100 ml con *metanolo R* e filtrare. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta, al massimo di assorbimento a 245 nm circa, utilizzando *metanolo R* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 340.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 1 mg o 2 mg di aloperidolo.

ALOPERIDOLO PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di aloperidolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di aloperidolo è una soluzione sterile contenente Aloperidolo in Acido lattico diluito con Acqua per preparazioni iniettabili.

Contenuto di aloperidolo ($C_{21}H_{23}ClFNO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad un volume di soluzione in esame contenente 20 mg di aloperidolo aggiungere 5 ml di acqua R ed 1 ml di sodio idrossido 1M ed estrarre con 10 ml di diclorometano R. Filtrare l'estratto organico su cotone assorbente, evaporare il filtrato e seccare a 60 °C ad una pressione non superiore ai 0,7 kPa. Esaminare il residuo mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con aloperidolo SCR.
- B. La soluzione, preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 230 nm e 350 nm (2.2.25) presenta un solo massimo di assorbimento a 245 nm circa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,8 e 3,6.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando gel di silice GF₂₅₄ R come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame, eventualmente diluita con acqua R fino ad una concentrazione dello 0,2 per cento m/V di aloperidolo.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 200 ml con metanolo R.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con metanolo R.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 80 volumi di diclorometano R, 10 volumi di acido acetico glaciale R e 10 volumi di metanolo R.

Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione diluita R* ed esaminare alla luce del giorno. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale, una sola di esse può essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (a), ma non deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (b).

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 142,8 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,2 per cento m/V di aloperidolo. Se necessario, diluire la preparazione in esame con acqua SEB.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 10 mg di aloperidolo, aggiungere 8 ml di acqua R e 10 ml di acido cloridrico 1 M.

Estrarre con 2 porzioni successive da 25 ml ciascuna di etere R e, successivamente, con 2 porzioni da 10 ml.

Lavare gli estratti eteri riuniti con 10 ml di acqua R, riunire gli estratti acquosi e allontanare l'etere mediante evaporazione. Portare al volume di 100 ml con acqua R e diluire 10 ml a 100 ml con metanolo R.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 245 nm, utilizzando metanolo R come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 340.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione iniettabile può contenere lo 0,2 per cento m/V di aloperidolo.

AMITRIPTILINA COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di amitriptilina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di amitriptilina contengono Amitriptilina cloridrato in adeguati eccipienti.

Contenuto di amitriptilina cloridrato ($C_{20}H_{24}ClN$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 100 mg circa di amitriptilina cloridrato, aggiungere 10 ml di *cloroformio R* e agitare per alcuni min. Filtrare, evaporare a piccolo volume, aggiungere *etere R* fino a torbidità e lasciare a riposo. I cristalli che si formano, essiccati a 105 °C, fondono (2.2.14) a 195 °C circa.
- B. La soluzione preparata come descritto alla Determinazione quantitativa, esaminata tra 200 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 239 nm circa.

SAGGI

Uniformità di contenuto. (2.9.6.). Polverizzare finemente ogni compressa, aggiungere 15 ml circa di *acido cloridrico 0,1 M*, agitare per 30 min circa e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente. Proseguire quindi come descritto alla determinazione quantitativa a partire da: «Filtrare. A 10,0 ml aggiungere ...»

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse.

Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 100 mg circa di amitriptilina cloridrato, aggiungere 150 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, agitare per 30 min circa e diluire a 200,0 ml con lo stesso solvente. Filtrare. A 10,0 ml aggiungere 5 ml di *acqua R* e 1 g di *sodio cloruro R*. Mescolare per almeno 3 min e alcalinizzare con *sodio idrossido 5 M*. Estrarre con quattro porzioni da 20 ml ciascuna di *etere R*. Lavare gli estratti eterici riuniti con due porzioni da 5 ml ciascuna di una miscela di eguali volumi di *acqua R* e *sodio cloruro R* soluzione satura; estrarre con venti e successivamente con due porzioni da 5 ml ciascuna di *acido cloridrico 0,1 M*.

Scaldare evaporando le soluzioni acide, riunite, a b.m. per 30 min, raffreddare e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 10,0 ml a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 239 nm usando come riferimento

acido cloridrico 0,1 M. Calcolare il contenuto di $C_{20}H_{24}ClN$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 445.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 10 mg di amitriptilina cloridrato.

AMMONIO CLORURO CONCENTRATO STERILE

Ammonio cloruro soluzione da diluire

Il concentrato sterile di ammonio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di ammonio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 16,0 per cento *m/V* di *Ammonio cloruro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ammonio cloruro (NH_4Cl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei sali d'ammonio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,0 e 6,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 5,16 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ammonio. Diluire 5,0 ml della soluzione in esame, esattamente misurati, con 15 ml di *acqua R*. Aggiungere 5 ml di *formaldeide R*, previamente neutralizzati in pre-

Amoxicillina capsule

senza di *fenoltaleina soluzione R* e 20 ml di *acqua R*. Titolare lentamente dopo 1 o 2 min con *sodio idrossido 1 M* in presenza di 0,2 ml dello stesso indicatore. 1 ml di *sodio idrossido 1 M* equivale a 53,49 mg di NH_4Cl .

Cloruri. Diluire 1 ml di soluzione con 20 ml di *acqua R*. Aggiungere 2 ml di soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

AMOXICILLINA CAPSULE

Le capsule di amoxicillina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di amoxicillina contengono *Amoxicillina triidrata* in adeguati eccipienti.

Contenuto di amoxicillina ($\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$): non meno del 92,5 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere o un granulato di colore bianco o paglierino, di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 0,5 g di amoxicillina, con 5 ml di *acqua R* per 5 min, filtrare, lavare il residuo prima con *etanolo R* e poi con *etere R*, seccare a pressione ridotta, non superiore a 0,7 kPa, per 1 h.

Il residuo soddisfa i seguenti saggi di identificazione.

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), confrontando lo spettro ottenuto con il residuo in esame con lo spettro ottenuto con *Amoxicillina triidrata SCR*.
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H silanizzato R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 25 mg del residuo in 10 ml di *sodio bicarbonato soluzione R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *amoxicillina triidrata SCR* in 10 ml di *sodio bicarbonato soluzione R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di *amoxicillina triidrata SCR* e 25 mg di *ampicillina triidrata SCR* in 10 ml di *sodio bicarbonato soluzione R*.

Deporre separatamente sulla lastra 1 μl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acetone R* e 90 volumi di una soluzione (154 g/l) di *ammonio acetato R*, il cui pH è stato aggiustato a 5,0 con *acido acetico glaciale R*.

Lasciar seccare la lastra all'aria ed esporla a vapori di iodio fino alla comparsa delle macchie. Esaminare alla luce del giorno. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) mostra due macchie nettamente separate.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Aggiustare il rapporto tra le fasi mobili A e B e l'attenuazione come descritto per la Determinazione quantitativa.

Iniettare la soluzione di riferimento (d). Iniettare la soluzione in esame (b) preparata di recente. Far partire l'eluizione in modo isocratico, con la fase mobile scelta. Immediatamente dopo l'eluizione del picco dell'amoxicillina, partire con un gradiente lineare di eluizione in modo da raggiungere un rapporto tra le fasi mobili A:B di 0:100 in 25 min. Continuare la cromatografia con la sola fase mobile B per altri 15 min, quindi equilibrare la colonna per 15 min con la fase mobile scelta all'inizio.

Iniettare la fase mobile A usando lo stesso gradiente di eluizione utilizzato per ottenere un bianco.

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b), l'area di ogni picco, oltre quello principale e ogni picco osservato nel cromatogramma bianco, non può essere maggiore dell'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (d) (1 per cento).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Riunire e mescolare il contenuto di 20 capsule.

Soluzione in esame (a). Aggiungere 80 ml della fase mobile A ad una quantità di polvere corrispondente a 60,0 mg circa di amoxicillina ed agitare per 15 min. Miscelare ulteriormente con l'aiuto di un bagno a ultrasuoni per 1 min, aggiungere una quantità sufficiente di fase mobile A per portare a volume in matraccio tarato da 100,0 ml. Mescolare e filtrare.

Soluzione in esame (b). Aggiungere 80 ml della fase mobile A ad una quantità di polvere corrispondente a 150,0 mg di amoxicillina ed agitare per 15 min. Miscelare ulteriormente con l'aiuto di un bagno a ultrasuoni per 1 min, aggiungere una quantità sufficiente di fase mobile A per portare a volume in matraccio tarato da 100,0 ml. Mescolare e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 30,0 mg di amoxicillina triidrato SCR nella fase mobile A e diluire a 50,0 ml con la stessa fase mobile.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 4,0 mg di cefadroxil SCR nella fase mobile A e diluire a 50,0 ml con la stessa fase mobile. A 5 ml di questa soluzione aggiungere 5,0 ml della soluzione di riferimento (a) e diluire a 100,0 ml con la fase mobile A.

Soluzione di riferimento (c). Diluire 1,0 ml della soluzione di riferimento (a) a 20,0 ml con la fase mobile A. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 50,0 ml con la fase mobile A.

Soluzione di riferimento (d). Diluire 2,0 ml della soluzione di riferimento (a) a 20,0 ml con la fase mobile A. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 20,0 ml con la fase mobile A.

Il procedimento cromatografico può essere effettuato utilizzando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm, impaccata con gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm),
- come fase mobile ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto:

Fase mobile A: una miscela di 1 volume di acetone-trile R e 99 volumi di soluzione tampone a pH 5,0.

Fase mobile B: una miscela di 20 volumi di acetone-trile R e 80 volumi di soluzione tampone a pH 5,0.

Preparare la soluzione tampone come segue: a 250 ml di potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M, aggiungere sodio idrossido soluzione diluita R fino a pH 5,0 e diluire a 1000 ml con acqua R,

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,

- volume di iniezione 50 µl.

Equilibrare la colonna con una fase mobile costituita da una miscela delle fasi mobili A e B in rapporto 92:8.

Iniettare la soluzione di riferimento (b). Il saggio è valido solo se la risoluzione tra i due picchi principali è almeno 2,0. Se necessario, aggiustare il rapporto tra le fasi A:B nella fase mobile. Il rapporto di distribuzione di massa per il primo picco (amoxicillina) è compreso tra 1,3 e 2,5.

Iniettare la soluzione di riferimento (c). Aggiustare il sistema in modo da ottenere un picco con un rapporto segnale-rumore di fondo di almeno 3. Iniettare la soluzione di riferimento (a) per 6 volte. Il saggio è valido solo se la deviazione standard relativa è al massimo 1,0 per cento. Iniettare alternativamente la soluzione in esame (a) e la soluzione di riferimento (a).

Calcolare il contenuto di $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ nelle capsule dai cromatogrammi ottenuti e dal contenuto di $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ dichiarato nella amoxicillina triidrato SCR.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto, in termini di quantità equivalente di amoxicillina anidra.

Le capsule possono contenere 250 mg o 500 mg di amoxicillina.

AMOXICILLINA COMPRESSE

Le compresse di amoxicillina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di amoxicillina contengono Amoxicillina triidrato in adeguati eccipienti.

Contenuto di amoxicillina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$): non meno del 92,5 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H silanizzato R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 0,5 g di amoxicillina, con 5 ml di *acqua R* per 5 min, filtrare, lavare il residuo prima con *etanolo R* e poi con *etere R*, seccare a pressione ridotta per 1 h. Disciogliere 25 mg del residuo in 10 ml di *sodio bicarbonato soluzione R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *amoxicillina triidrata SCR* in 10 ml di *sodio bicarbonato soluzione R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di *amoxicillina triidrata SCR* e 25 mg di *ampicillina triidrata SCR* in 10 ml di *sodio bicarbonato soluzione R*.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acetone R* e 90 volumi di una soluzione (154 g/l) di *ammonio acetato R*, il cui pH è stato aggiustato a 5,0 con *acido acetico glaciale R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esporla a vapori di iodio fino alla comparsa delle macchie. Esaminare alla luce del giorno. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) mostra due macchie nettamente separate.

SAGGI

Sostanze correlate. Non più del 4,0 per cento, determinate mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse e pesare una quantità di polvere corrispondente a 0,100 g di amoxicillina. Introdurre la polvere in un pallone tarato da 100 ml e aggiungere, a porzioni, l'eluente A della fase mobile, agitando dopo ogni aggiunta. Portare al volume di 100,0 ml e filtrare.

Soluzione di riferimento. In un pallone tarato da 25 ml disciogliere 20 mg di *amoxicillina triidrata SCR* e 40 mg di *ampicillina triidrata SCR* con l'eluente A della fase mobile e portare a volume. Trasferire 1,0 ml della soluzione ottenuta in un pallone tarato da 50 ml e portare a volume con l'eluente A della fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm, impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una miscela costituita da 2 eluenti: eluente A: soluzione contenente 1,361 g/l di *potassio fosfato monobasico R* (0,01 M), eluente B: una miscela di 20 volumi di eluente A e 80 volumi di *acetonitrile per cromatografia R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 215 nm,
- un integratore.

Effettuare l'eluizione con un sistema a gradiente lineare, tale che il rapporto degli eluenti B:A passi da 5:95 a 70:30 in 30 min, mantenendo la composizione finale per ulteriori 5 min.

Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e regolare la sensibilità dello strumento in modo da mantenere l'altezza del picco dell'amoxicillina tra il 50 per cento e il 90 per cento del fondo scala. Per ciascuna sostanza i tempi di ritenzione di 2 iniezioni ripetute devono mantenersi entro il 3,5 per cento e, inoltre, il tempo di ritenzione dell'amoxicillina deve essere compreso tra 4 e 5 min, aggiustando, se necessario, la composizione della fase mobile.

Calcolare la risoluzione tra i picchi dell'amoxicillina e dell'ampicillina ($R_s > 9,0$) e, inoltre, il fattore di simmetria del picco dell'amoxicillina che deve essere inferiore a 1,4. Per il picco principale verificare la linearità della risposta nell'intervallo di concentrazioni comprese fra quelle del campione iniettato (30 µg in 20 µl) e quella di una diluizione pari a 1/10 della precedente. In caso di non linearità aggiustare la concentrazione del campione da iniettare in maniera da rientrare nella condizione di linearità nell'intervallo di concentrazioni sopracitate; parimenti, aggiustare la concentrazione della soluzione di riferimento, rispettando le previste condizioni di regolazione della sensibilità.

Iniettare 20 µl della soluzione in esame, effettuare un conveniente numero di replicazioni e registrare le aree dei picchi, escludendo quelli aventi un'area inferiore allo 0,10 per cento dell'area totale e quelli dovuti ai solventi.

Calcolare il contenuto delle impurezze determinando il rapporto tra la somma delle aree dei picchi relativi alle sostanze correlate e l'area totale di tutti i picchi presi in considerazione.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse.

Prodotti di degradazione. Pesare esattamente una quantità di polvere, corrispondente a 0,250 g circa di amoxicillina ed aggiungere 25 ml di *tampone soluzione a pH 9,0 R1* e 0,5 ml di *anidride acetica R*. Agitare per 3 min ed aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento.

Calcolare il contenuto in percentuale dei prodotti di degradazione (*D*), espressi come $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, mediante l'espressione:

$$\frac{0,7308 n}{p}$$

p = massa del campione in grammi,

n = millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati.

Amoxicillina. Pesare esattamente una quantità di polvere, corrispondente a 50,0 mg circa di amoxicillina ed aggiungere 10 ml di *tampone soluzione a pH 9,0 R1* e 0,2 ml di *anidride acetica R*. Agitare per 3 min, aggiungere 10,0 ml di *sodio idrossido 1 M*, lasciare a riposo per 15 min ed aggiungere quindi 10,0 ml di *acido nitrico 1 M* e 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento. Effettuare la titolazione entro circa 15 min e non considerare il primo punto di flesso.

Calcolare il contenuto in percentuale di $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ mediante l'espressione:

$$\frac{0,7308 n_1}{p_1} - D$$

*p*₁ = massa del campione in grammi,

*n*₁ = millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati,

D = percentuale dei prodotti di degradazione.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di amoxicillina anidra.

Le compresse contengono 1 g di amoxicillina.

AMOXICILLINA GRANULATO PER SOSPENSIONE ORALE

Al granulato di amoxicillina si applicano anche i requisiti definiti nelle monografie Granulati (0499) e Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Il granulato per sospensione orale di amoxicillina contiene *Amoxicillina triidrata* in adeguati eccipienti.

CARATTERI

Polvere o granulato omogeneo di dimensioni variabili.

Preparazione della sospensione: al granulato contenuto nel flacone aggiungere acqua fino al segno riportato sul flacone stesso. Chiudere il flacone, agitare energicamente fino alla formazione di una sospensione omogenea.

Contenuto di amoxicillina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) nella sospensione ricostituita di recente: non meno del 90,0 per cento e non più del 120,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Prelevare un volume di sospensione corrispondente a 0,125 g di amoxicillina e diluire a 100 ml con *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 14 mg di *amoxicillina triidrata SCR* in 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R*.

Spruzzare la lastra, prima della deposizione, con una soluzione (1 g/l) di *sodio edetato R* in una soluzione (50 g/l) di *sodio fosfato monobasico R*. Asciugare all'aria e seccare a 105 °C per 1 h. Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *butile acetato R*, 1 volume di *butanolo R*, 6 volumi di *acido acetico R* e 2 volumi di soluzione (1 g/l) di *sodio edetato R* in una soluzione (50 g/l) di *sodio fosfato monobasico R*. Asciugare la lastra all'aria, essiccare a 100-105 °C per 15 min e spruzzare con una miscela di 100 volumi di *amido soluzione R*, 6 volumi di *acido acetico glaciale R* e 2 volumi di una soluzione (10 g/l) di *iodio R* in una soluzione (40 g/l) di *potassio ioduro R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per

Amoxicillina granulato per sospensione orale

posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione preparata come indicato in etichetta è compreso tra 5,0 e 7,5.

Perdita all'essiccamento. Non superiore al 3 per cento, determinato sul granulato, a 60 °C nel vuoto.

Sostanze correlate. Non più del 4,0 per cento, determinato mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Agitare bene la sospensione e prelevare un volume corrispondente a 0,100 g di amoxicillina, aggiungere, a porzioni, l'eluente A della fase mobile, agitando dopo ogni aggiunta. Portare al volume di 100,0 ml e, eventualmente, filtrare.

Soluzione di riferimento. In un pallone da 25 ml disciogliere 20 mg di *amoxicillina triidrata SCR* e 40 mg di *ampicillina triidrata SCR* con l'eluente A della fase mobile e portare a volume. Trasferire 1 ml della soluzione ottenuta in un pallone da 50 ml e portare a volume con l'eluente A della fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm, impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una miscela costituita da 2 eluenti:
eluente A: soluzione di *potassio fosfato monobasico R* (0,01 M),
eluente B: una miscela di 20 volumi di eluente A e 80 volumi di *acetone nitrile per cromatografia R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 215 nm,
- un integratore.

Effettuare l'eluizione con un sistema a gradiente lineare, tale che il rapporto degli eluenti B:A passi da 5:95 a 70:30 in 30 min, mantenendo la composizione finale per ulteriori 5 min.

Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e regolare la sensibilità dello strumento in modo da mantenere l'altezza del picco dell'amoxicillina tra il 50 per cento e il 90 per cento del fondo scala. Per ciascuna sostanza i tempi di ritenzione di 2 iniezioni ripetute devono mantenersi entro il 3,5 per cento e inoltre il tempo di ritenzione dell'amoxicillina deve essere compreso tra 4 min e 5 min, aggiustando eventualmente la composizione della fase mobile.

Calcolare la risoluzione tra i picchi della amoxicillina e dell'ampicillina ($R_s > 9,0$) e, inoltre, il fattore di simmetria del picco dell'amoxicillina che deve essere inferiore a 1,4. Per il picco principale verificare la linearità della risposta nell'intervallo di concentrazioni comprese fra quelle del campione iniettato (30 µg in 20 µl) e quella di una diluizione pari a 1/10 della precedente. In caso di non linearità aggiustare la concentrazione del campione da iniettare in maniera da rientrare nella condizione di linearità nell'intervallo di concentrazioni sopracitate; parimenti, aggiustare la concentrazione della soluzione di riferimento, rispettando le previste condizioni di regolazione della sensibilità.

Iniettare 20 µl della soluzione in esame, effettuare un conveniente numero di iniezioni e registrare le aree dei picchi, escludendo quelli aventi un'area inferiore allo 0,10 per cento dell'area totale e quelli dovuti ai solventi.

Calcolare il contenuto delle impurezze determinando il rapporto tra la somma delle aree dei picchi relativi alle sostanze correlate e l'area totale di tutti i picchi presi in considerazione.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Prodotti di degradazione. Ad una quantità (ml) di sospensione, ottenuta secondo le istruzioni d'uso, esattamente misurata e corrispondente a 0,250 g di amoxicillina, aggiungere 25 ml di *tampone soluzione a pH 9,0 RI* e 0,5 ml di *anidride acetica R*. Agitare per 3 min ed aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento.

Calcolare il contenuto, in mg per ml, dei prodotti di degradazione (*D*), espressi come $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, mediante l'espressione:

$$\frac{0,7308 n}{v}$$

v = quantità di sospensione in millilitri,

n = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati.

Amoxicillina. Ad una quantità di sospensione, ottenuta secondo le istruzioni d'uso, esattamente misurata e corrispondente a 50,0 mg di amoxicillina, aggiungere 10 ml di *tampone soluzione a pH 9,0 RI* e 0,2 ml di *anidride acetica R*. Agitare per 3 min, aggiungere 10,0 ml di *sodio idrossido 1 M*, lasciare a riposo per 15 min ed aggiungere quindi 10,0 ml di *acido nitrico 1 M* e 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare imme-

diatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento. Effettuare la titolazione entro 15 min circa e non considerare il primo punto di flesso.

Calcolare il contenuto in percentuale di $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ mediante l'espressione:

$$\frac{0,7308 n_1}{v_1} - D$$

v_1 = quantità di sospensione in millilitri,

n_1 = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati,

D = contenuto, in mg per ml, dei prodotti di degradazione.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di amoxicillina anidra.

Il granulato per sospensione orale contiene amoxicillina triidrata corrispondente al 3,75 per cento m/m o al 7,5 per cento m/m di amoxicillina.

La sospensione orale preparata secondo le istruzioni contiene il 2,5 per cento m/V o il 5 per cento m/V di amoxicillina.

AMPICILLINA CAPSULE

Le capsule di ampicillina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di ampicillina contengono *Ampicillina anidra* o *Ampicillina triidrata* in adeguati eccipienti.

Contenuto di ampicillina anidra ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$): non meno del 92,5 per cento e non più del 107,5 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere bianca o leggermente paglierina.

IDENTIFICAZIONE

Riunire e mescolare il contenuto di alcune capsule.

- A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando una lastra di *gel di silice H silanizzato R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Sospendere e agitare una quantità di polvere equivalente a 0,125 g di ampicillina in *sodio bicarbonato soluzione R*, diluire a 50 ml con lo stesso solvente e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *ampicillina triidrata SCR* in *sodio bicarbonato soluzione R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di *ampicillina triidrata SCR* e 25 mg di *amoxicillina triidrata SCR* in *sodio bicarbonato soluzione R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 1 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acetone R* e 90 volumi di una soluzione contenente 154 g/l di *ammonio acetato R* portata a pH 5,0 con *acido acetico glaciale R*. Asciugare la lastra all'aria, esporla a vapori di iodio fino a comparsa delle macchie ed esaminarle alla luce del giorno. La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie ben separate.

- B. Sospendere una quantità di polvere corrispondente a 10 mg circa di ampicillina in 1 ml di *acqua R*. Aggiungere 2 ml di una miscela di 2 volumi di *cupri - tartarica soluzione IR* e 6 volumi di *acqua R*. Si sviluppa immediatamente una colorazione violetto-rossastra.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Agitare per 15 minuti con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni, una quantità di polvere corrispondente a 0,300 g circa di ampicillina in 80 ml di fase mobile A, diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente e filtrare su filtro di porosità 0,4 μ m.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1,0 ml della soluzione in esame a 100,0 ml con la fase mobile A.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25,0 mg di *ampicillina anidra SCR* e 2,0 mg di *cefradina SCR* nella fase mobile A e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Ampicillina capsule

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm),
- come fase mobile ad un flusso di 1 ml per minuto:
Fase mobile A. Diluire una miscela di 1 volume di acido acetico diluito R, 100 volumi di potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R e 100 volumi di acetonitrile R a 2000 volumi con acqua R,
Fase mobile B. Diluire una miscela di 1 volume di acido acetico diluito R, 100 volumi di potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R e 800 volumi di acetonitrile R a 2000 volumi con acqua R,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,
- volume di iniezione: 50 µl.

Equilibrare la colonna con una fase mobile costituita da 85 volumi di fase A e 15 volumi di fase B. Il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) la risoluzione tra i picchi dovuti alla ampicillina e alla cefradina è almeno 3,0. Se necessario, aggiustare la composizione della fase mobile.

Iniettare aliquote successive della soluzione in esame e della soluzione di riferimento (a) con eluizione isocratica. Immediatamente dopo l'eluizione del picco della ampicillina, eluire con il seguente programma di eluizione:

Tempo (min)	Fase mobile A per cento V/V	Fase mobile B per cento V/V	Commento
0→30	85→0	15→100	gradiente lineare
30→45	0	100	isocratica
45→60	85	15	ri-equilibratura

Iniettare la fase mobile A ed usare lo stesso programma di eluizione per ottenere il bianco.

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame nessun picco secondario è maggiore dell'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (1,0 per cento).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Riunire e mescolare il contenuto di 20 capsule. Agitare per 15 minuti, con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni, una quantità di polvere corrispondente a 60 mg circa di ampicillina con 80 ml della fase mobile A, diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente e filtrare. Diluire 5,0 ml della soluzione ottenuta a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 6,0 mg di ampicillina anidra SCR in 100,0 ml con la fase mobile A.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25,0 mg di ampicillina anidra SCR e 2,0 mg di cefradina SCR nella fase mobile A e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm),
- come fase mobile una miscela costituita da 85 volumi di fase A e 15 volumi di fase B, ad un flusso di 1 ml per minuto.

Fase mobile A. Diluire una miscela di 1 volume di acido acetico diluito R, 100 volumi di potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R e 100 volumi di acetonitrile R a 2000 volumi con acqua R,

Fase mobile B. Diluire una miscela di 1 volume di acido acetico diluito R, 100 volumi di potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R e 800 volumi di acetonitrile R a 2000 volumi con acqua R.

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,
- volume di iniezione: 50 µl.

Il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) la risoluzione tra i picchi dovuti alla ampicillina e alla cefradina è almeno 3,0. Se necessario, aggiustare la composizione della fase mobile.

Calcolare il contenuto di C₁₆H₁₉N₃O₄S nelle capsule rispetto al contenuto di C₁₆H₁₉N₃O₄S dichiarato nella ampicillina anidra SCR.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

Quando il principio attivo è *Ampicillina triidrata*, l'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di ampicillina anidra.

Le capsule possono contenere 250 mg o 500 mg come ampicillina anidra.

**AMPICILLINA SODICA
PREPARAZIONE INIETTABILE**

Ampicillina sodica polvere sterile
per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di ampicillina sodica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di ampicillina sodica è una soluzione sterile di *Ampicillina sodica* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile di ampicillina sodica nel prescritto volume di solvente.

Ampicillina sodica
per preparazioni iniettabili

L'ampicillina sodica per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'ampicillina sodica per preparazioni iniettabili è costituita da *Ampicillina sodica* polvere sterile.

Contenuto di ampicillina (C₁₆H₁₉N₃O₄S): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

- A. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 0,25 g di ampicillina in 5 ml di *acqua R*, aggiungere 0,5 ml di *acido acetico diluito R*, mescolare e lasciare a riposo per 10 min in acqua ghiacciata. Filtrare su filtro di vetro sinterizzato (un grado di porosità 3 è adatto), lavare con 2-3 ml di una miscela di 9 volumi di *acetone R* e 1 volume di *acqua R*, seccare a circa 60 °C per 30 min. Esaminare il residuo mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *ampicillina triidrata SCR*.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice H silanizzato R* come sostanza di riferimento.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di preparazione equivalente a 25 mg di ampicillina in *sodio bicarbonato soluzione R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *ampicillina triidrata SCR* in *sodio bicarbonato soluzione R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di *ampicillina triidrata SCR* e 25 mg di *amoxicillina triidrata SCR* in *sodio bicarbonato soluzione R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acetone R* e 90 volumi di una soluzione contenente 154 g/l di *ammonio acetato R* portata a pH 5,0 con *acido acetico glaciale R*. Asciugare la lastra all'aria, esporla a vapori di iodio fino a comparsa delle macchie ed esaminarle alla luce del giorno. La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie ben separate.

C. Dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 2 g di ampicillina sodica in 20 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione, misurato entro 10 min dalla preparazione, è compreso tra 8,0 e 10,0.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Disciogliere, con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni, una quantità di prodotto equivalente a 0,300 g circa di ampicillina in 80 ml di fase mobile A, diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente e filtrare su filtro di porosità 0,4 µm.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100,0 ml con la fase mobile A.

Soluzione di riferimento (b). Aggiungere 1 ml di *acqua R* a 0,2 g di *ampicillina anidra SCR*. Scaldare la soluzione a 60 °C per 1 h. Diluire 0,5 ml a 50,0 ml con la fase mobile A.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 25,0 mg di *ampicillina anidra SCR* e 2,0 mg di *cefradina SCR* nella fase mobile A e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Ampicillina sodica preparazione iniettabile

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile ad un flusso di 1 ml per minuto:
Fase mobile A. Diluire una miscela di 1 volume di *acido acetico diluito R*, 100 volumi di *potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R* e 100 volumi di *acetonitrile R* a 2000 volumi con *acqua R*,
Fase mobile B. Diluire una miscela di 1 volume di *acido acetico diluito R*, 100 volumi di *potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R* e 800 volumi di *acetonitrile R* a 2000 volumi con *acqua R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,
- volume di iniezione: 50 µl.

Equilibrare la colonna con una fase mobile costituita da 85 volumi di fase A e 15 volumi di fase B. Iniettare la soluzione di riferimento (c), il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto la risoluzione tra i picchi dovuti all'ampicillina e alla cefradina è almeno 3,0. Se necessario, aggiustare la composizione della fase mobile.

Iniettare aliquote successive della soluzione in esame e della soluzione di riferimento (a) ed effettuare una eluizione con la fase mobile impiegata per equilibrare la colonna. Immediatamente dopo l'eluizione del picco dell'ampicillina, eluire con il seguente programma di eluizione:

Tempo (min)	Fase mobile A		Fase mobile B		Commento
	per cento	V/V	per cento	V/V	
0→30	85	→0	15	→100	gradiente lineare
30→45	0		100		isocratica
45→60	85		15		ri-equilibratura

Iniettare la fase mobile A ed usare lo stesso programma di eluizione per ottenere il bianco.

Iniettare la soluzione di riferimento (b) usando lo stesso programma di eluizione. Il cromatogramma ottenuto mostra un picco dovuto all'ampicillina e un picco dovuto al dimero dell'ampicillina con un tempo di ritenzione relativo rispetto all'ampicillina di circa 2,8.

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame l'area del picco corrispondente al dimero dell'ampicillina non è maggiore di 4,5 volte l'area del picco principale presente nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (4,5 per cento) e l'area di ogni altro picco non è maggiore del doppio dell'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (2,0 per cento).

Acqua (2.5.12). Non più del 2,0 per cento, determinata su 0,300 g mediante il metodo semimicro.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,15 U.I. di endotossine per mg di ampicillina sodica.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media dei contenuti dei flaconcini come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Disciogliere, con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni, una quantità di polvere ottenuta miscelando il contenuto dei 10 flaconi, equivalente a 60,0 mg di ampicillina nella fase mobile A. Diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente e filtrare su filtro di porosità 0,4 µm. Diluire 1,0 ml della soluzione a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 60,0 mg di *ampicillina anidra SCR* in 10,0 ml della fase mobile A; diluire 1,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25,0 mg di *ampicillina anidra SCR* e 2,0 mg di *cefradina SCR* nella fase mobile A e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, una miscela costituita da 85 volumi di fase mobile A e 15 volumi di B, ad un flusso di 1 ml per minuto:
Fase mobile A. Diluire una miscela di 1 volume di *acido acetico diluito R*, 100 volumi di *potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R* e 100 volumi di *acetonitrile R* a 2000 volumi con *acqua R*,
Fase mobile B. Diluire una miscela di 1 volume di *acido acetico diluito R*, 100 volumi di *potassio fosfato monobasico soluzione 0,2 M R* e 800 volumi di *acetonitrile R* a 2000 volumi con *acqua R*.
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,
- volume di iniezione: 50 µl.

Il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) la risoluzione tra i picchi dovuti alla ampicillina e alla cefradina è almeno 3,0. Se necessario, aggiustare la composizione della fase mobile. Iniettare sei volte la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se la deviazione relativa standard è inferiore all'1,0 per cento.

Iniettare 50 µl di ciascuna soluzione.

Calcolare il contenuto di $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ in un contenitore, utilizzando la massa media rispetto al contenuto dichiarato di $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ nella *ampicillina anidra SCR*.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di ampicillina sodica espresso in termini di ampicillina anidra.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere Ampicillina sodica polvere sterile corrispondente a 250 mg, 500 mg o 1 g di ampicillina; le fiale di solvente possono contenere 2,5 ml, 2,5 ml o 4,0 ml rispettivamente di Acqua per preparazioni iniettabili.

ANFIFILA CREMA BASE

La crema base anfifila soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema base ha la seguente composizione:

Vaselina bianca	25,5	g
Glicole propilenico	10	g
Trigliceridi saturi a catena media	7,5	g
Macrogol stearato	7	g
Alcool cetostearilico	6	g
Glicerilmonostearato 40-50	4	g
Acqua depurata	40	g

Può contenere conservanti.

Preparazione: scaldare a 60 °C circa, sino a fusione, la *Vaselina bianca*, i *Trigliceridi saturi a catena media*, l'*Alcool cetostearilico* e il *Glicerilmonostearato 40-50*. Sciogliere gli altri componenti nell'*Acqua depurata*, bollita di recente; scaldare la soluzione così ottenuta a 60 °C ed unirla alla massa fusa, agitando sino a raffreddamento, reintegrando l'acqua eventualmente evaporata.

CARATTERI

Crema bianca, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Mescolare 0,5 g di base con *acqua R*, aggiunta a porzioni, sino ad ottenere una miscela lattiginosa. A parte, raffreddare su ghiaccio, in un piccolo becher, 5 ml di una miscela formata da 1 volume di *acqua R* e 9 volumi di *acido solforico R*; aggiungere a questa miscela 0,05 ml della miscela lattiginosa. Scaldare a b.m. a 70 °C per 10 min, raffreddare ed aggiungere 0,2 ml di una soluzione (30 g/l) di *ninidrina R* in una soluzione (250 g/l) di *sodio bisolfito R*. Si sviluppa lentamente una colorazione violacea, che raggiunge la massima intensità entro 1 h. Effettuare una prova in bianco; si sviluppa al massimo una colorazione rosa pallido.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce, al riparo da fonti di calore.

ANTAZOLINA E NFAZOLINA COLLIRIO SOLUZIONE

Antazolina e nafazolina soluzione oftalmica

Il collirio di antazolina e nafazolina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio di antazolina e nafazolina ha la seguente composizione:

Antazolina solfato	0,50	g
Nafazolina nitrato	0,025	g
Sodio cloruro	0,80	g
Benzalconio cloruro	0,010	g
Acqua depurata q.b. a	100	ml

Contenuto di antazolina solfato ($(C_{17}H_{19}N_3)_2 \cdot H_2SO_4$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di nafazolina nitrato ($C_{14}H_{14}N_2 \cdot HNO_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. I picchi principali del cromato-

Argento nitrato collirio soluzione

gramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, ai picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 5,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Diluire un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a circa 0,25 mg di nafazolina nitrato, a 20,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,5 g di *antazolina solfato SCR* e 25 mg di *nafazolina nitrato SCR* nella fase mobile e diluire a 100 ml con la fase mobile. Prelevare 1 ml e diluire a 20 ml sempre con la fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,30 m e con diametro interno di 3,9 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto, una miscela di 45 volumi di *metanolo R* e 55 volumi di una soluzione allo 0,3 per cento di *ammonio fosfato dibasico R* (aggiustata a pH 4,0 con *acido fosforico R*),
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare, per 6 volte, 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. La determinazione quantitativa è valida solo se la deviazione standard relativa delle aree ottenute per l'antazolina solfato è al massimo dell'1,5 per cento e se la risoluzione fra i picchi della antazolina solfato e nafazolina nitrato è almeno 7,0; se necessario aggiustare le concentrazioni dei componenti della fase mobile in modo da ottenere la risoluzione richiesta. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. Iniettare 20 µl della soluzione in esame e registrare il cromatogramma alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $(C_{17}H_{19}N_3)_2 \cdot H_2SO_4$ e $C_{14}H_{14}N_2 \cdot HNO_3$ dalle aree dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e la soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

ARGENTO NITRATO COLLIRIO SOLUZIONE

Argento nitrato soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di argento nitrato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di argento nitrato è una soluzione isotonica sterile contenente *Argento nitrato*.

Contenuto di argento nitrato ($AgNO_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Può contenere *Sodio acetato* come agente tamponante.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La preparazione in esame dà la reazione caratteristica dei nitrati (2.3.1).
- La preparazione in esame dà la reazione caratteristica dell'argento (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg circa di argento nitrato, con 25 ml di *acqua R*. Aggiungere 1 ml di *acido nitrico diluito R* e 1 ml di *ferro(-ico) ammonio solfato soluzione R2*. Titolare con *ammonio tiocianato 0,02 M* fino a che il colore vira al giallo rossastro.

1 ml di *ammonio tiocianato 0,02 M* equivale a 3,397 mg di $AgNO_3$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi al riparo dalla luce.

Il collirio soluzione contiene l'1,0 per cento m/V di argento nitrato.

ARGENTO NITRATO MATITA CUTANEA

La matita cutanea di argento nitrato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Bastoncini (1154).

DEFINIZIONE

La matita cutanea di argento nitrato contiene *Argento nitrato* e *Potassio nitrato*.

Contenuto in argento nitrato (AgNO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Bastoncini di varie dimensioni, di consistenza solida.

IDENTIFICAZIONE

Disciogliere una matita in 500 ml di *acqua R*. La soluzione:

- A. Dà la reazione caratteristica dell'argento (2.3.1).
- B. Dà la reazione caratteristica dei nitrati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Triturare una matita. Pesare esattamente circa 0,5 g di polvere, discioglierla in 250 ml di *acqua R* ed acidificare con 2 ml di *acido nitrico diluito R*. Titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *ammonio tiocianato 0,1 M* equivale a 16,99 mg di AgNO_3 .

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La matita cutanea contiene il 50 per cento m/m di argento nitrato e il 50 per cento m/m di potassio nitrato.

**ARGENTO PROTEINATO
GOCCE NASALI**

Gocce nasali di protargolo

Le gocce nasali di argento proteinato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

Le gocce nasali di argento proteinato contengono *Argento proteinato* in *Acqua depurata*.

Contenuto di argento (Ag): non meno del 7,5 per cento e non più dell'8,5 per cento della quantità di argento proteinato indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido o leggermente opalescente, di colore bruno, privo di depositi.

IDENTIFICAZIONE

- A. Evaporare 10 ml di preparazione in esame; calcinare. Disciogliere il residuo ottenuto in una miscela costituita da 1 ml di *acido nitrico R* e 10 ml di *acqua R*, scaldando. Filtrare ed aggiungere al filtrato 5 ml di *acido cloridrico diluito R*. Si ottiene un precipitato bianco caseoso solubile in *ammoniaca R*.
- B. A 10 ml di preparazione in esame aggiungere 2 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*. La soluzione tende a decolorare. Lasciare a riposo. La soluzione diventa opalescente.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare esattamente circa 100 g di preparazione in esame in un crogiolo ed evaporare cautamente (in stufa a 180 °C). Calcinare su fiamma fino a cessazione dei fumi che si sviluppano, proseguendo quindi in muffola. Raffreddare e disciogliere il residuo in 10 ml di *acido nitrico R*. Scaldare fino ad eliminazione dei vapori nitrosi e diluire a 100 ml con *acqua R*. Filtrare quantitativamente e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* in presenza di 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2*, fino alla comparsa di un colore giallo-rosastro.

1 ml di *ammonio tiocianato 0,1 M* equivale a 10,79 mg di Ag.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Le gocce nasali contengono lo 0,5, l'1 o il 2 per cento m/m di argento proteinato.

ATROPINA COLLIRIO SOLUZIONE

Atropina solfato soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di atropina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio di atropina è una soluzione sterile contenente lo 0,5 per cento *m/V* di *Atropina solfato* in soluzione isotonica sterile.

Contenuto di atropina solfato ($C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame diluita, se del caso, ad una concentrazione pari a circa 5 mg/ml di atropina solfato.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *atropina solfato SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *dietilammina R*, 40 volumi di *acetone R* e 50 volumi di *cloroformio R*. Seccare la lastra a 105 °C per 20 min e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,5 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Porre in imbuto separatore una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg circa di atropina solfato, ed alcalinizzare (pH 8,5-9) con *sodio bicarbonato soluzione 1 M*. Estrarre la soluzione con 6 porzioni da 10 ml ciascuna di *cloroformio R*. Portare al volume di 100,0 ml con *cloroformio R* gli estratti riuniti. Titolare 50,0 ml di questa soluzione

con una soluzione contenente 0,951 g/l di *acido toluen-solfonico R* e 10 g/l di *fenolo R* in *diossano R*, utilizzando come indicatore 10 gocce di una soluzione ottenuta sciogliendo 50 mg di *giallo metile R* in 100 ml di *alcool al 90 per cento V/V R*.

1 ml di soluzione contenente 0,951 g/l di *acido toluen-solfonico R* equivale a 1,737 mg di $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

Il collirio contiene anche l'1 per cento m/V di atropina solfato.

ATROPINA COMPRESSE

Le compresse di atropina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di atropina contengono *Atropina solfato* in adeguati eccipienti.

Nota: non utilizzare eccipienti di natura basica. Usare solo solventi non acquosi (es. alcool) per una eventuale granulazione.

Contenuto di atropina solfato ($C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Trasferire una quantità di polvere, corrispondente a circa 5 mg di atropina solfato, in un tubo da centrifuga; aggiungere 10 ml di *alcool R*. Agitare e centrifugare; evaporare a secco sotto vuoto il soprannatante limpido. Riprendere il residuo con 1 ml di *alcool R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *atropina solfato SCR* in 10 ml di *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando come fase mobile una miscela di 10 volumi di *dietilam-*

mina R, 40 volumi di acetone R e 50 volumi di cloroformio R. Seccare la lastra a 105 °C per 20 min e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa ed estrarre in un tubo da centrifuga, con 5,0 ml di *acqua R* agitando per almeno 10 min. Centrifugare e prelevare il surnatante. Evaporare a secco a pressione ridotta 2,0 ml di soluzione. Riprendere il residuo con 0,25 ml di *acido nitrico fumante R*; evaporare a secco, a b.m. a 50 °C, fino a scomparsa di gas nitrosi. Riprendere quantitativamente il residuo con *dimetilformammide R* e portare al volume di 25,0 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 0,3 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e, se necessario, filtrare. Dopo 5 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 550 nm utilizzando come bianco una miscela formata da 25 ml di *dimetilformammide R* e 0,3 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R*. Effettuare contemporaneamente e nelle stesse condizioni, una prova di confronto con *atropina solfato SCR*. Calcolare il contenuto di $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$ tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Sospendere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 2,5 mg di atropina solfato, in 10 ml di *acqua R*, agitare per 10 min e filtrare su filtro in materiale poroso (40), lavando quantitativamente con *acqua R*. Portare al volume di 25,0 ml con *acqua R*. Evaporare a secco, a pressione ridotta, 1 ml di soluzione e riprendere il residuo con 0,25 ml di *acido nitrico fumante R*; evaporare a secco, a b.m. a 50 °C, fino a scomparsa di gas nitrosi. Riprendere quantitativamente il residuo con *dimetilformammide R* e portare al volume di 25,0 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 0,3 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e, se necessario, filtrare. Dopo 5 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 550 nm utilizzando come bianco una miscela formata da 25 ml di *dimetilformammide R* e 0,3 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R*. Effettuare contemporaneamente e nelle stesse condizioni, una prova di confronto con *atropina solfato SCR*. Calcolare il contenuto di $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$ tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 0,250 mg di atropina solfato.

ATROPINA PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di atropina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di atropina è una soluzione sterile di *Atropina solfato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di atropina solfato ($C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Evaporare a secco sotto vuoto una quantità di soluzione corrispondente a circa 5 mg di atropina solfato. Riprendere il residuo con 1 ml di *alcool R*. Lasciare a riposo e usare il liquido soprannatante.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *atropina solfato SCR* in 10 ml di *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando come fase mobile una miscela di 10 volumi di *dietilammina R*, 40 volumi di *acetone R* e 50 volumi di *cloroformio R*.

Seccare la lastra a 105 °C per 20 min e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Atropina preparazione oftalmica semisolida

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta un picco con lo stesso tempo di ritenzione del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,8 e 4,5.

Endotossine batteriche. Non più di 175 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,05 per cento *m/V* di atropina solfato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Preparazioni iniettabili contenenti meno dello 0,1 per cento *m/V* di atropina solfato.

Soluzione in esame. Utilizzare la soluzione iniettabile.
Soluzione di riferimento. Disciogliere nella fase mobile atropina solfato SCR e omatropina bromidrato SCR in modo da ottenere una soluzione in cui, entrambe, presentino una concentrazione uguale a quella della soluzione iniettabile in esame.

– Volume di iniezione: 50 µl.

Preparazioni iniettabili contenenti lo 0,1 per cento *m/V* o più di atropina solfato.

Soluzione in esame. Se necessario, diluire con acqua R la soluzione iniettabile fino ad ottenere una concentrazione dello 0,1 per cento *m/V* di atropina solfato.

Soluzione di riferimento. Disciogliere nella fase mobile atropina solfato SCR e omatropina bromidrato SCR in modo da ottenere una soluzione in cui, entrambe, presentino una concentrazione uguale a quella della soluzione in esame.

– Volume di iniezione: 20 µl.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,10 m e con un diametro interno di 4,6 mm, impaccata con gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R (5 µm);
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 2 ml per minuto, una soluzione 0,01 M in sodio acetato R e 0,01M in sodio docusato R in metanolo R al 60 per cento *V/V* aggiustando il pH a 5,5 con acido acetico glaciale R;
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 257 nm.

Il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento la risoluzione tra i picchi dell'atropina solfato e dell'omatropina bromidrato è almeno 2,5.

Calcolare il contenuto di $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$ considerando il contenuto dichiarato in $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$ dell'atropina solfato SCR.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione iniettabile può contenere 0,5 mg/ml e 1,0 mg/ml di atropina solfato.

ATROPINA PREPARAZIONE OFTALMICA SEMISOLIDA

Atropina solfato pomata oftalmica

L'atropina preparazione oftalmica semisolida soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

La preparazione oftalmica semisolida di atropina è una preparazione sterile contenente lo 0,5 per cento *m/m* di Atropina solfato, calcolato con riferimento alla sostanza anidra, in Vaseline sterile.

Contenuto di atropina solfato ($C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione di consistenza pastosa, filante, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Trasferire una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg circa di atropina solfato, in un imbuto separatore contenente 20 ml di etere R, agitare ed estrarre con due porzioni da 5 ml ciascuna di acqua R. Riunire le fasi acquose (Soluzione 1).

A. La soluzione 1 dà la reazione caratteristica dei solfati (2.3.1).

B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando gel di silice GF₂₅₄ R come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La soluzione 1.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di atropina solfato SCR in 10 ml di acqua R.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 100 volumi di *metanolo R* e 1,5 volumi di *ammoniaca R*, preparata al momento dell'uso. Seccare la lastra all'aria per 20 min e poi a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra ancora calda con *iodoplatinico reattivo R* e seccare di nuovo a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Trasferire una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 50 mg circa di atropina solfato, in un imbuto separatore contenente 50 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con più porzioni di *acido solforico 0,0005 M*. Riunire le fasi acquose in un secondo imbuto separatore, alcalinizzare con *sodio idrossido 0,5 M* (pH 10.5) ed estrarre con più porzioni di *cloroformio R*. Riunire gli estratti cloroformici in un pallone da 100 ml portando a volume con lo stesso solvente. Titolare 80 ml con una soluzione di *acido toluensolfonico 0,005 M R* in *diossano R* contenente l'1,0 per cento *m/V* di *fenolo R* usando come indicatore 10 gocce di una soluzione ottenuta sciogliendo 50 mg di *giallo metile R* in 100 ml di *alcool al 90 per cento V/V R*.

1 ml di soluzione di *acido toluensolfonico R 0,005 M* equivale a 1,737 mg di $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

BACITRACINA E POLIMIXINA PREPARAZIONE OFTALMICA SEMISOLIDA

Bacitracina e polimixina B solfato
pomata oftalmica

La preparazione oftalmica semisolida di bacitracina e polimixina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

La preparazione oftalmica semisolida di bacitracina e polimixina è una preparazione sterile contenente *Bacitracina* e *Polimixina B solfato* in adeguati eccipienti.

Attività della bacitracina: compresa tra il 90,0 per cento e il 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità indicata in etichetta.

Attività della polimixina B solfato: compresa tra il 90,0 per cento e il 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Dispersione di consistenza pastosa, filante.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a circa 500 U.I. di bacitracina e a circa 10000 U.I. di polimixina B solfato, aggiungere 50 ml di *etere R*, agitare bene ed estrarre la miscela con 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 6 R* suddivisi in due o tre porzioni. Riunire gli estratti e portare a volume con *tampone fosfato soluzione a pH 6 R* in un pallone tarato da 10 ml.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere una quantità di *bacitracina zinco SCR*, corrispondente a 500 U.I. in 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 6 R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere una quantità di *polimixina B solfato SCR*, corrispondente a 10000 U.I. in 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 6 R*.

Deporre sulla lastra, separatamente, 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire, per un percorso di 15 cm circa, con una miscela, preparata al momento dell'uso, di 25 ml di *alcool propilico R* e *acqua R* (3:1), 5 ml di *benzene R*, 1,5 ml di *glicole etilenico R* e 1,0 ml di *acido acetico glaciale R*. Asciugare la lastra all'aria e seccare in stufa a 100-105 °C per 20 min. Spruzzare la lastra con una soluzione (5 g/l) di *ninidrina R* in *acetone R* e scaldare a 120 °C per 5 min. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, presenta due macchie principali, una di colore marrone e l'altra di colore viola, con R_f e dimensioni uguali a quelle dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a circa 500 U.I. di bacitracina e a circa 10000 U.I. di polimixina B solfato, aggiungere 50 ml di *etere R*, agitare ed estrarre la miscela con tre porzioni da 3 ml ciascuna di *tampone fosfato soluzione*

Bacitracina e polimixina unguento

a pH 6 R. Riunire gli estratti, introdurli in un pallone tarato da 10 ml e portare a volume con *tampone fosfato soluzione a pH 6 R*.

Bacitracina. Effettuare la titolazione microbiologica degli antibiotici (2.7.2) su 1,0 ml dell'estratto, diluito in modo opportuno. Usare *bacitracina zinco SCR* come sostanza di riferimento.

Polimixina B solfato. Effettuare la titolazione microbiologica degli antibiotici (2.7.2) su 1,0 ml dell'estratto, diluito in modo opportuno.

CONSERVAZIONE

In un adeguato contenitore ben chiuso, al riparo dal calore.

La preparazione oftalmica semisolida contiene 500 U.I. di bacitracina e 10000 U.I. di polimixina B solfato per grammo di prodotto.

BACITRACINA E POLIMIXINA UNGUENTO

L'unguento di bacitracina e polimixina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di bacitracina e polimixina contiene *Bacitracina* e *Polimixina B solfato* in adeguati eccipienti.

Attività della bacitracina: compresa tra il 90,0 per cento e il 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità indicata in etichetta.

Attività della polimixina B solfato: compresa tra il 90,0 per cento e il 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Dispersione di consistenza pastosa, filante, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a circa 500 U.I. di bacitracina e a circa 30000 U.I. di polimixina B solfato, aggiungere 50 ml di *etere R*, agitare bene ed estrarre la miscela con 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 6 R* suddivisi in due o

tre porzioni. Riunire gli estratti e portare a volume con *tampone fosfato soluzione a pH 6 R* in un pallone tarato da 10 ml.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere una quantità di *bacitracina zinco SCR*, corrispondente a 500 U.I. in 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 6 R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere una quantità di *polimixina B solfato SCR*, corrispondente a 30000 U.I. in 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 6 R*.

Deporre sulla lastra, separatamente, 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire, per un percorso di 15 cm circa, con una miscela, preparata al momento dell'uso, di 25 ml di *alcool propilico R* e *acqua R* (3:1), 5 ml di *benzene R*, 1,5 ml di *glicole etilenico R* e 1,0 ml di *acido acetico glaciale R*. Asciugare la lastra all'aria e seccare in stufa a 100-105 °C per 20 min. Spruzzare la lastra con una soluzione (5 g/l) di *ninidrina R* in *acetone R* e scaldare a 120 °C per 5 min. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, presenta due macchie principali, una di colore marrone e l'altra di colore viola con R_f e dimensioni uguali a quelle dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a circa 500 U.I. di bacitracina e a circa 30000 U.I. di polimixina B solfato, aggiungere 50 ml di *etere R*, agitare ed estrarre la miscela con tre porzioni da 3 ml ciascuna di *tampone fosfato soluzione a pH 6 R*. Riunire gli estratti, introdurli in un pallone tarato da 10 ml e portare a volume con *tampone fosfato soluzione a pH 6 R*.

Bacitracina. Effettuare la titolazione microbiologica degli antibiotici (2.7.2) su 1,0 ml dell'estratto, diluito in modo opportuno. Usare *bacitracina zinco SCR* come sostanza di riferimento.

Polimixina B solfato. Effettuare la titolazione microbiologica degli antibiotici (2.7.2) su 1,0 ml dell'estratto, diluito in modo opportuno.

CONSERVAZIONE

In tubo di materiale idoneo, ben chiuso, al riparo dal calore.

L'unguento contiene 500 U.I. di bacitracina e 30000 U.I. di polimixina B solfato per grammo di prodotto.

BASE PER EMULSIONE CUTANEA

La base per emulsione cutanea soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927)*.

DEFINIZIONE

La base per emulsione cutanea ha la seguente composizione:

<i>Paraffina liquida</i>	23,75	g
<i>Trigliceridi saturi a catena media</i>	8,75	g
<i>Alcool cetostearilico</i>	6,75	g
<i>Dimeticone</i> ⁽¹⁾	4,5	g
<i>Alcooli di lanolina</i>	1,56	g
<i>Macrogol cetostearile etere</i>	6,25	g
<i>Carbomeri</i>	0,75	g
<i>Sodio edetato</i>	0,25	g
<i>Glicole propilenico</i>	7,5	g
<i>Sodio laurilsolfato</i>	0,625	g
<i>Sodio idrossido</i> soluzione (100 g/l)	1,675	g
<i>Acqua depurata</i> q.b. a	100	g

Preparazione: umettare i *Carbomeri* con circa 7,5 g di *Acqua depurata* bollita di recente e poi aggiungere il resto dell'*Acqua depurata*, ugualmente bollita di recente, agitando vigorosamente fino a dispersione priva di grumi. Aggiungere, quindi, sotto agitazione, il *Sodio edetato*, il *Glicole propilenico* e il *Sodio laurilsolfato*, riscaldando a b.m. a circa 60 °C. Scaldare a parte, a circa 60 °C, la *Paraffina liquida*, i *Trigliceridi saturi a catena media*, l'*Alcool cetostearilico*, il *Dimeticone*, gli *Alcooli di lanolina* e il *Macrogol cetostearile etere*, fino a fusione e quindi unire, alla stessa temperatura e agitando vigorosamente per breve tempo, alla dispersione dei *Carbomeri*. Alla emulsione così ottenuta aggiungere, agitando lentamente, la soluzione di *Sodio idrossido* e, quindi, rimescolare sino a raffreddamento reintegrando l'*Acqua depurata* eventualmente evaporata.

La base per emulsione cutanea deve essere diluita 4 a 6 con una fase acquosa prima dell'uso.

⁽¹⁾ Viscosità nominale uguale o inferiore a 50 mm² · s⁻¹ (50 cSt)

CARATTERI

Emulsione bianca, omogenea, di consistenza pastosa non versabile.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce e dal calore.

BASI PER PREPARAZIONI LIQUIDE PER USO ORALE

Le basi per preparazioni liquide per uso orale soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni liquide per uso orale (0672)*

DEFINIZIONE

Le basi per preparazioni liquide per uso orale hanno le seguenti composizioni:

<i>Sorbitolo</i>	7,35	g	28	g
<i>Glicerolo 85 per cento</i>	10	g	10	g
<i>Saccarosio</i>	46,5	g	—	
<i>Acqua depurata</i> q.b. a	100	ml	100	ml

Possono contenere conservanti idonei (per esempio una miscela di paraidrossibenzoati allo 0,10-0,15 per cento).

Preparazione: disciogliere, agitando, i componenti solidi in un uguale peso di *Acqua depurata* riscaldata a 50 °C. Lasciar raffreddare a temperatura ambiente e aggiungere, mescolando, i componenti liquidi, portando a volume con *Acqua depurata*: se necessario filtrare su garza o colino.

Le basi possono contenere anche il 7,0 per cento *m/V* di *Etanolo 96 per cento*.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore o leggermente giallo, di sapore dolce.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, possibilmente pieni, al riparo dalla luce e non esposti ad eccessive escursioni termiche.

BENZALCONIO CONCENTRATO PER SOLUZIONE CUTANEA

Il concentrato, per soluzione cutanea, di benzalconio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

Il concentrato per soluzione cutanea di benzalconio è una soluzione di *Benzalconio cloruro* in soluzione idroalcolica al 7 per cento.

Contenuto di benzalconio cloruro calcolato come $C_{22}H_{40}ClN$: non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore, di odore caratteristico, che produce abbondante schiuma per agitazione.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 20 mg circa di benzalconio cloruro, aggiungere 1 ml di *acido nitrico diluito R*: si forma un precipitato bianco, solubile in 5 ml di *alcool R*.
- B. Evaporare una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 50 mg circa di benzalconio cloruro, a secco a b.m.; disciogliere il residuo in 1 ml di *acido solforico R*, aggiungere 0,1 g di *potassio nitrato R* e scaldare a b.m. per 5 min. Raffreddare, diluire con 10 ml di *acqua R*, aggiungere 0,5 g di *zinco polvere R* e scaldare nuovamente a b.m. per 5 min. A 2 ml del liquido soprannatante aggiungere 0,5 ml di *sodio nitrito soluzione R*, raffreddare in ghiaccio e aggiungere 3 ml di *β -naftolo soluzione R*: si sviluppa una colorazione rosso-arancione.
- C. Dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,0 e 7,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Trasferire una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 500 mg circa di benzalconio cloruro, in un imbuto separatore; aggiungere 25 ml di *cloroformio R*, 10 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 10,0 ml di una soluzione (50 g/l) di *potassio*

ioduro R preparata di recente. Agitare bene, lasciar separare gli strati e scartare lo strato cloroformico. Agitare lo strato acquoso con tre quantità, da 10 ml ciascuna, di *cloroformio R* ed eliminare gli strati cloroformici. Aggiungere allo strato acquoso 40 ml di *acido cloridrico R*, lasciar raffreddare e titolare con *potassio iodato 0,05 M* fino a scomparsa del colore bruno scuro. Aggiungere 2 ml di *cloroformio R* e continuare la titolazione, agitando energicamente, finché il colore dello strato cloroformico non cambia più. Eseguire una prova in bianco con una miscela di 10,0 ml di una soluzione (50 g/l) di *potassio ioduro R* preparata di recente, 20 ml di *acqua R* e 40 ml di *acido cloridrico R*.

1 ml di *potassio iodato 0,05 M* equivale a 35,4 mg di $C_{22}H_{40}ClN$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

– la diluizione d'uso.

La soluzione contiene l'1 per cento m/V di benzalconio cloruro, da diluire 1:10 prima dell'uso.

BENZILE BENZOATO UNGUENTO

L'unguento di benzile benzoato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di benzile benzoato contiene *Benzile benzoato* in un adeguato eccipiente.

Contenuto in benzile benzoato ($C_{14}H_{12}O_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contiene un idoneo emulsionante idrodispersibile.

CARATTERI

Unguento di consistenza pastosa, omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando gel di silice GF₂₅₄ R come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 100 mg di benzile benzoato, aggiungere 20 ml di metanolo R, riscaldare, agitando, a b.m. Raffreddare e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di benzile benzoato SCR in 1 ml di metanolo R.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 100 volumi di tetracloruro di carbonio R, 40 volumi di esano R e 10 volumi di etile acetato R. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a circa 60 mg di benzile benzoato, aggiungere 70 ml di metanolo R. Riscaldare, agitando, a b.m.; raffreddare, diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente e filtrare. Diluire 1,0 ml del filtrato a 100,0 ml con metanolo R. Preparare una soluzione di riferimento (0,006 g/l) utilizzando benzile benzoato SCR in metanolo R. Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione al massimo a 230 nm utilizzando come bianco metanolo R. Calcolare il contenuto di C₁₄H₁₂O₂ tenendo conto delle assorbanze misurate e della concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In idoneo recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

L'unguento contiene il 20 per cento m/m di benzile benzoato.

BENZILPENICILLINA BENZATINICA PREPARAZIONE INIETTABILE

Benzilpenicillina benzatinica polvere sterile per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di Benzilpenicillina benzatinica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di benzilpenicillina benzatinica è una sospensione sterile di Benzilpenicillina benzatinica in Acqua per preparazioni iniettabili.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso sospendendo la polvere sterile di benzilpenicillina benzatinica nel prescritto volume di solvente.

Benzilpenicillina benzatinica per preparazioni iniettabili

La benzilpenicillina benzatinica per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La Benzilpenicillina benzatinica per preparazione iniettabile è costituita da Benzilpenicillina benzatinica polvere sterile. Può contenere un adatto agente tampone e agenti disperdenti o sospendenti.

Contenuto di benzilpenicillina benzatinica (C₄₈H₅₆N₆O₈S₂): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta

IDENTIFICAZIONE

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con benzilpenicillina benzatinica SCR.
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando una lastra di gel di silice silanizzato per cromatografia su strato sottile R.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 25 mg di benzilpenicillina benzatinica in metanolo R e diluire a 5 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento Disciogliere 25 mg di benzilpenicillina benzatinica SCR in 5 ml di metanolo R.

Benzilpenicillina benzatinica preparazione iniettabile

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm usando una miscela di 30 volumi di *acetone R* e 70 volumi di una soluzione (154 g/l) di *ammonio acetato R* portata a pH 7,0 con *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria, esporla a vapori di iodio fino a comparsa delle macchie. Esaminare alla luce del giorno. Le due macchie principali nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili per posizione, colore e dimensione alle due macchie principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento presenta due macchie ben separate.

SAGGI

Acidità o alcalinità. A circa 0,5 g della sostanza in esame aggiungere 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R* e agitare per 5 min. Filtrare su filtro di vetro sinterizzato. A 20 ml del filtrato aggiungere 0,1 ml di *blu di bromotimolo soluzione R1*. La soluzione assume una colorazione verde o gialla che vira al blu per aggiunta di non più di 0,2 ml di *sodio idrossido 0,02 M*.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Evitare il riscaldamento delle soluzioni durante la preparazione dei campioni.

Soluzione in esame: Disciogliere, con l'aiuto di un bagno a ultrasuoni, una quantità di polvere pari a circa 70,0 mg di benzilpenicillina benzatinica in 25 ml di *metanolo R* e diluire a 50 ml con una soluzione (6,8 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* e (1,02 g/l) di *sodio fosfato dibasico R* in *acqua R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere circa 70,0 mg di benzilpenicillina benzatinica SCR in 25 ml di *metanolo R* e diluire a 50 ml con una soluzione (6,8 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* e (1,02 g/l) di *sodio fosfato dibasico R* in *acqua R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml di soluzione di riferimento (a) a 100 ml con la fase mobile A.

Idoneità del sistema. Utilizzare la soluzione di riferimento (a). I tempi di ritenzione relativi al picco della benzilpenicillina dovranno essere: 0,3 - 0,4 per il picco relativo alla benzatina e circa 2,4 per l'impurezza C (acido benzilpenicilloico, sale di benzatina).

Se necessario, aggiustare la concentrazione del metanolo nella fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,0 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- temperatura: 40 °C,
- come fase mobile ad un flusso di 1 ml per minuto:
 - Fase mobile A.** Mescolare 10 volumi di una soluzione (34 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* portata a pH 3,5 con una soluzione di *acido fosforico diluito R*, 30 volumi di *metanolo R* e 0 volumi di *acqua R*,
 - Fase mobile B.** Mescolare 10 volumi di una soluzione (34 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* portata a pH 3,5 con una soluzione di *acido fosforico diluito R*, 60 volumi di *etanolo R* e 30 volumi di *acqua R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 220 nm,
- volume di iniezione: 20 µl.

Equilibrare la colonna effettuando almeno tre eluizioni con il seguente gradiente:

Tempo (min)	Fase mobile A per cento V/V	Fase mobile B per cento V/V	Commento
0→10	75→0	25	isocratica
10→20	75→0	25→100	gradiente lineare
20→55	0	25	isocratica
55→70	75	25	ri-equilibratura

Iniettare la fase mobile A ed usare lo stesso gradiente di eluizione per ottenere il bianco.

Limiti

Impurezza C: nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, l'area di ogni altro picco, oltre al principale e al picco della benzatina, non è maggiore di due volte la somma delle aree del picco principale e della benzatina del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (2,0 per cento).

Ogni altra impurezza: nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, l'area di ogni altro picco, oltre al principale e al picco della benzatina, non è maggiore della somma delle aree del picco principale e della benzatina del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (1,0 per cento).

Acqua (2.5.12). Compresa tra il 5 per cento e l'8 per cento, determinata su 0,300 g mediante il metodo semimicro.

Endotossine batteriche (2.6.14 Metodo E). Sospendere 20 mg della sostanza in esame in 20 ml di una soluzione di *sodio idrossido 0,1M* diluita 1 a 100. Agitare vigorosamente con vortex e centrifugare. Il surnatante deve contenere meno di 0,13 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Disciogliere, con l'aiuto di un bagno a ultrasuoni, una quantità di polvere pari a circa 70,0 mg di benzilpenicillina benzatinica in 25 ml di metanolo R e diluire a 50,0 ml con una soluzione (6,8 g/l) di potassio fosfato monobasico R e (1,02 g/l) di sodio fosfato dibasico R in acqua R.

Soluzione di riferimento. Disciogliere circa 70,0 mg di benzilpenicillina benzatinica SCR in 25 ml di metanolo R e diluire a 50,0 ml con una soluzione (6,8 g/l) di potassio fosfato monobasico R e (1,02 g/l) di sodio fosfato dibasico R in acqua R.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito come per le sostanze correlate utilizzando però come sistema eluente la seguente fase mobile in condizioni isocratiche:

- Fase mobile: tampone fosfato soluzione a pH 3,5 R, metanolo R e acqua R, in rapporto 10:35:55 V/V/V.

Equilibrare la colonna con la fase mobile sopra descritta.

Iniettare alternativamente 20 µl della soluzione in esame e 20 µl della soluzione di riferimento.

Calcolare il contenuto di $C_{48}H_{56}N_6O_8S_2$, in un contenitore, utilizzando la massa media contenuta in un flaconcino, rispetto al contenuto dichiarato di $C_{48}H_{56}N_6O_8S_2$ nella benzilpenicillina benzatinica SCR.

1 mg di $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ è equivalente a 1,36 mg di $C_{48}H_{56}N_6O_8S_2$.

1 mg di benzilpenicillina benzatinica corrisponde a 1306 U.I. di benzilpenicillina, calcolato con riferimento alla benzilpenicillina benzatinica anidra.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di benzilpenicillina benzatinica espresso in termini di benzilpenicillina.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere benzilpenicillina benzatinica polvere sterile corrispondente a 1.200.000 U.I. o a

600.000 U.I. di benzilpenicillina; le fiale di solvente possono contenere, rispettivamente, 4 ml o 2,5 ml di Acqua per preparazioni iniettabili.

BENZILPENICILLINA POTASSICA PREPARAZIONE INIETTABILE

Benzilpenicillina potassica polvere sterile
per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di Benzilpenicillina potassica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di Benzilpenicillina potassica è una soluzione sterile di Benzilpenicillina potassica in Acqua per preparazioni iniettabili.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile nel prescritto volume di solvente.

Benzilpenicillina potassica per preparazioni iniettabili

La Benzilpenicillina potassica per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La Benzilpenicillina potassica per preparazioni iniettabili è costituita da Benzilpenicillina potassica polvere sterile. Può contenere un adatto agente tamponante.

Contenuto di benzilpenicillina ($C_{16}H_{18}N_2O_4S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con benzilpenicillina potassica SCR.
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando una lastra di gel di silice silanizzato per cromatografia su strato sottile R.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere in acqua R in modo da ottenere una soluzione allo 0,5 per cento m/V in benzilpenicillina.

Benzilpenicillina potassica preparazione iniettabile

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere una quantità di *benzilpenicillina potassica SCR* in *acqua R* in modo da ottenere una soluzione allo 0,5 per cento *m/V* in *benzilpenicillina*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere una quantità di *benzilpenicillina potassica SCR* e di *fenossimetilpenicillina potassica SCR* in *acqua R* in modo da ottenere una soluzione allo 0,5 per cento *m/V* in *benzilpenicillina* e allo 0,5 per cento *m/V* in *fenossimetilpenicillina*.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm, usando una miscela di 30 volumi di *acetone R* e 70 volumi di una soluzione contenente 154 g/l di *ammonio acetato R* portata a pH 5,0 con *acido acetico glaciale R*. Asciugare la lastra all'aria, esporla a vapori di iodio fino a comparsa delle macchie ed esaminarle alla luce del giorno. La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie ben separate.

C. Dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 2,0 g di *benzilpenicillina* in 20,0 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 7,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come descritto nella Determinazione quantitativa fino a:

Equilibrare la colonna con una fase mobile costituita da 70 volumi di fase A e 30 volumi di fase B.

Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento (d) ed effettuare un'eluizione isocratica con la fase mobile impiegata per equilibrare la colonna. Iniettare 20 µl della soluzione in esame (b) ed effettuare un'eluizione isocratica con la fase mobile impiegata per equilibrare la colonna. Immediatamente dopo l'eluizione del picco della *benzilpenicillina*, eluire con il seguente gradiente:

Tempo (min)	Fase mobile A per cento V/V	Fase mobile B per cento V/V	Commento
0→20	70→0	30→100	gradiente lineare
20→35	0	100	isocratica
35→50	70	30	ri-equilibratura

Iniettare *acqua R* ed usare lo stesso gradiente di eluizione per ottenere il bianco.

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b), l'area di ogni altro picco, oltre il principale, non è maggiore dell'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (d) (1,0 per cento).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore all'1,0 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento in forno a 100 - 105 °C.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,16 U.I. di endotossine per mg di *Benzilpenicillina potassica*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media dei contenuti dei flaconcini come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame (a). Disciogliere, con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni, una quantità di polvere pari a circa 50,0 mg di *benzilpenicillina* in *acqua R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione in esame (b). Disciogliere, con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni, una quantità di polvere pari a circa 80,0 mg di *benzilpenicillina* in *acqua R* e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 50,0 mg di *benzilpenicillina sodica SCR* in *acqua R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10,0 mg di *benzilpenicillina sodica SCR* e 10,0 mg di *acido fenilacetico SCR* in *acqua R*, diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (c). Diluire 1,0 ml di soluzione di riferimento (a) a 20,0 ml con *acqua R*. Diluire 1,0 ml di tale soluzione a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (d). Diluire 4,0 ml di soluzione di riferimento (a) a 100,0 ml con *acqua R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),

- come fase mobile ad un flusso di 1 ml per minuto:

Fase mobile A. Mescolare 10 volumi di una soluzione (68 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* por-

tata a pH 3,5 con una soluzione (500 g/l) di *acido fosforico diluito R*, 30 volumi di *metanolo R* e 60 volumi di *acqua R*,

Fase mobile B. Mescolare 10 volumi di una soluzione (68 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* portata a pH 3,5 con una soluzione (500 g/l) di *acido fosforico diluito R*, 50 volumi di *metanolo R* e 40 volumi di *acqua R*,

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 225 nm,

Equilibrare la colonna con una fase mobile costituita da 70 volumi di fase A e 30 volumi di fase B.

Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento (b).

Il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) la risoluzione tra i picchi dovuti alla benzilpenicillina e all'acido fenilacetico è almeno 6,0 (se necessario, aggiustare la composizione della fase mobile) e il rapporto di distribuzione di massa per il picco della benzilpenicillina è compreso tra 4,0 e 6,0. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento (c). Il rapporto segnale rumore deve risultare almeno 3. Iniettare sei volte la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se la deviazione relativa standard è inferiore all'1,0 per cento.

Iniettare alternativamente 20 µl della soluzione in esame (a) e della soluzione di riferimento (a).

Calcolare il contenuto di $C_{16}H_{18}N_2O_4S$, in un flaconcino, utilizzando la massa media, rispetto al contenuto dichiarato di *benzilpenicillina SCR*.

1 mg di $C_{16}H_{17}N_2NaO_4 S$ è equivalente a 1,045 mg di $C_{16}H_{17}N_2KO_4S$.

1 mg di benzilpenicillina potassica corrisponde a 1595 U.I. di benzilpenicillina.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di benzilpenicillina potassica espresso in termini di benzilpenicillina.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere Benzilpenicillina potassica polvere sterile corrispondente a 1.000.000 U.I. di benzilpenicillina; le fiale di solvente possono contenere 4 ml di Acqua per preparazioni iniettabili.

BENZOILE PEROSSIDO CREMA

La crema di benzoile perossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema di benzoile perossido contiene *Benzoile perossido idrato* in idonea crema base idrofila.

Contenuto di benzoile perossido anidro ($C_{14}H_{10}O_4$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: incorporare cautamente il *Benzoile perossido idrato* in una quantità di crema base pari a circa il doppio. Aggiungere poi la crema base rimanente e mescolare fino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Crema bianca, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Porre in una beuta 10 ml di *acetone R* ed aggiungere una piccola quantità di *potassio ioduro R*; aggiungere quindi 3 g circa di preparazione in esame ed agitare. Si sviluppa una colorazione che va dal giallo-rosso al marrone.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare una quantità di preparazione in esame, pari a 0,25 g di benzoile perossido anidro, con 50 ml di *acetone R* e portare a 100 ml con lo stesso solvente. Trasferire in una beuta 10 ml della soluzione ottenuta, aggiungere 25 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R* in *acqua R*, mescolare, tappare e lasciare a riposo per 15 min, al riparo dalla luce. Aggiungere 25 ml di *acetone R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,01 M*, usando come indicatore *saldia d'amido R*, aggiunta verso la fine della titolazione. Effettuare una prova in bianco. La differenza tra i millilitri di *sodio tiosolfato 0,01 M* utilizzati per la titolazione della soluzione in esame e quelli consumati nella prova in bianco dà la quantità di sodio tiosolfato richiesta.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,01 M* equivale a 1,211 mg di $C_{14}H_{10}O_4$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

La crema contiene una quantità di benzoile perossido idrato pari al 5 per cento m/m o al 10 per cento m/m di benzoile perossido anidro.

BETAMETASONE PREPARAZIONE SEMISOLIDA PER APPLICAZIONE CUTANEA

Betametasone crema, unguento

La preparazione semisolida per applicazione cutanea di betametasone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

Il betametasone preparazione semisolida per applicazione cutanea contiene *Betametasone dipropionato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di betametasone dipropionato ($C_{28}H_{37}FO_7$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Dispersione di consistenza pastosa, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Mescolare una quantità di preparazione, corrispondente a 0,75 mg circa di betametasone dipropionato, con 20 ml di una miscela di 4 volumi di *metanolo R* e 1 volume di *acido cloridrico 0,1 M*. Riscaldare, agitare fino a completa omogeneizzazione ed estrarre con 30 ml di *esano R*. Scartare la fase idrocarburica; alla fase inferiore aggiungere 20 ml di *acqua R* ed estrarre con due porzioni successive ciascuna da 20 ml di *cloroformio R*. Riunire gli estratti cloroformici, evaporare a secco sotto vuoto. Al residuo aggiungere 5 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Una soluzione (0,15 g/l) di *betametasone dipropionato SCR* in *cloroformio R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 70 volumi di *cloroformio R* e 10 volumi di *acetone R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e quindi in stufa a 100-105 °C per 10 min. Spruzzare con *blu di tetrazolio soluzione alcalina R* e scaldare nuovamente a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, dimensione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 2,5 mg circa di betametasone dipropionato, aggiungere 30 ml di *alcool esente da aldeide R* e scaldare a b.m. Mescolare, omogeneizzare e raffreddare in frigorifero fino a solidificazione della massa fusa. Filtrare la soluzione alcoolica in pallone tarato da 50 ml e ripetere l'estrazione con tre porzioni, da 5 ml ciascuna, di *alcool esente da aldeide R*. Riunire le fasi alcooliche e diluire a 50,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Preparare contemporaneamente una soluzione (50 µg/ml) di *betametasone dipropionato SCR* in *alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 2 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come bianco 10 ml di *alcool esente da aldeide R* trattati alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $C_{28}H_{37}FO_7$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

– la forma farmaceutica (crema o unguento).

La preparazione semisolida per applicazione cutanea contiene lo 0,05 per cento m/m di betametasone dipropionato.

BETAMETASONE E NEOMICINA PREPARAZIONE SEMISOLIDA PER APPLICAZIONE CUTANEA

Betametasone e neomicina crema, unguento

La preparazione semisolida per applicazione cutanea di betametasone e neomicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

Il betametasone e neomicina preparazione semisolida per applicazione cutanea è una preparazione che contiene *Betametasone dipropionato* e *Neomicina solfato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di betametasone dipropionato ($C_{28}H_{37}FO_7$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Attività della neomicina solfato: compresa tra il 90,0 per cento ed il 125,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di neomicina solfato indicata in etichetta (1 mg = 680 U.I.).

CARATTERI

Dispersione di consistenza pastosa, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Betametasone dipropionato. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Mescolare una quantità di preparazione, corrispondente a 0,75 mg circa di betametasone dipropionato, con 20 ml di una miscela di 4 volumi di *metanolo R* e 1 volume di *acido cloridrico 0,1 M*. Riscaldare, agitare fino a completa omogeneizzazione ed estrarre con 30 ml di *esano R*. Eliminare la fase idrocarburica; alla fase inferiore aggiungere 20 ml di *acqua R* ed estrarre con due porzioni successive ciascuna da 20 ml di *cloroformio R*. Riunire gli estratti cloroformici, evaporare a secco sotto vuoto. Al residuo aggiungere 5 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Una soluzione (0,15 g/l) di *betametasone dipropionato SCR* in *cloroformio R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 70 volumi di *cloroformio R* e 10 volumi di *acetone R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e quindi in stufa a 100-105 °C per 10 min. Spruzzare con *blu di tetrazolio soluzione alcalina R* e scaldare nuovamente a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, dimensione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Neomicina solfato. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 10 mg circa di neomicina solfato, aggiungere 20 ml di *cloroformio R*. Agitare fino ad ottenere una miscela omogenea, estrarre con 18 ml di *acqua R* suddivisi in tre porzioni. Riunire gli estratti acquosi, diluire a 20 ml con *acqua R* ed eventualmente filtrare.

A. La soluzione ottenuta dà le reazioni dei solfati (2.3.1).

B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La soluzione ottenuta come sopra descritto.

Soluzione di riferimento. Una soluzione (0,5 g/l) di *neomicina solfato SCR* in *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una soluzione (100 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R*. Lasciar asciugare la lastra all'aria per 20 min e seccare a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra ancora calda con una soluzione (1 g/l) di *ninidrina R* in *butanolo R* saturo di *acqua R* e scaldare nuovamente a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Betametasone dipropionato. *Operare al riparo dalla luce.* Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 2,5 mg circa di betametasone dipropionato, aggiungere 30 ml di *alcool esente da aldeide R* e scaldare a b.m. Mescolare, omogeneizzare e raffreddare in frigorifero fino a solidificazione della massa fusa. Filtrare la soluzione alcoolica in pallone tarato da 50 ml e ripetere l'estrazione con tre porzioni, da 5 ml ciascuna, di *alcool esente da aldeide R*. Riunire le fasi alcooliche e diluire a 50,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Preparare contemporaneamente una soluzione (50 µg/ml) di *betametasone dipropionato SCR* in *alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 2 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come bianco 10 ml di *alcool esente da aldeide R* trattati alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $C_{28}H_{37}FO_7$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

Calcio carbonato e magnesio idrossido compresse

Neomicina solfato. Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 5 mg circa di neomicina solfato, aggiungere 20 ml di *cloroformio R*. Agitare fino ad ottenere una miscela omogenea ed estrarre con 10 ml di *tampone soluzione a pH 8 R*. Ripetere l'estrazione tre volte. Diluire gli estratti acquosi, filtrati e riuniti, a 50,0 ml con *tampone soluzione a pH 8 R*. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *neomicina solfato SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la forma farmaceutica (crema o unguento).

La preparazione semisolido per applicazione cutanea contiene lo 0,05 per cento m/m di betametasono dipropionato e lo 0,5 per cento m/m di neomicina solfato.

BROMOSULFOFTALEINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Bromosulfoftaleina sodica fiale

La preparazione iniettabile di bromosulfoftaleina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di bromosulfoftaleina è una soluzione sterile e apirogena di *Bromosulfoftaleina sodica* in *Acqua per preparazioni iniettabili* e adeguati eccipienti.

Contenuto di bromosulfoftaleina sodica ($C_{20}H_8Br_4Na_2O_{10}S_2$): non meno del 94,0 per cento e non più del 106,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o quasi incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 200 mg circa di bromosulfoftaleina sodica, aggiungere *sodio idrossido 1 M*: si sviluppa una intensa colorazione blu-violetta che scompare dopo aggiunta di acidi.

B. Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 100 mg circa di bromosulfoftaleina sodica, aggiungere 12 ml di *sodio carbonato soluzione RI*; evaporare a secco e calcinare. Il residuo, ripreso con 5 ml di *acqua R* e riscaldato a b.m., dà le reazioni caratteristiche dei bromuri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 6,5.

Endotossine batteriche. Non più di 50 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 5 per cento *m/V* di bromosulfoftaleina sodica.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire la soluzione con *sodio idrossido 0,05 M* fino ad ottenere una concentrazione di 5 µg/ml circa di bromosulfoftaleina sodica. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 580 nm usando come bianco *sodio idrossido 0,05 M*. Calcolare il contenuto di $C_{20}H_8Br_4Na_2O_{10}S_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 800.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La soluzione contiene il 5 per cento m/V di bromosulfoftaleina sodica e il 2,36 per cento m/V di Mannitolo.

CALCIO CARBONATO E MAGNESIO IDROSSIDO COMPRESSE

Le compresse di calcio carbonato e magnesio idrossido soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di calcio carbonato e magnesio idrossido contengono *Calcio carbonato e Magnesio idrossido* in adeguati eccipienti.

Contenuto di calcio carbonato ($CaCO_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di magnesio idrossido [$Mg(OH)_2$]: non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 300 mg circa di magnesio idrossido, aggiungere 20 ml di *acido cloridrico diluito R*, scaldare leggermente per 20 min, neutralizzare con *ammoniaca diluita RI* e filtrare. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche del calcio e del magnesio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 240 mg circa di magnesio idrossido, aggiungere 50 ml di *acqua R*, 10 ml di *acido cloridrico diluito R* e scaldare a b.m. per 30 min circa. Raffreddare, lavare il residuo con *acqua R*, riunire i filtrati e diluire a 100,0 ml con *acqua R* (Soluzione 1).

Calcio carbonato. A 20,0 ml della soluzione 1 aggiungere 75 ml di *acqua R*, 15 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 10 ml di *trietanolammina R*. Effettuare la titolazione del calcio con *sodio edetato 0,1 M*, utilizzando come indicatore 200 mg circa di *azzurro di idrosinaftolo R*, fino a colorazione blu cupa.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 10,01 mg di CaCO_3 .

Magnesio idrossido. A 25,0 ml della soluzione 1 aggiungere 75 ml di *acqua R*, 20 ml di *tampone soluzione a pH 10,9 R*, 10 ml di *trietanolammina R*. Titolare con *sodio edetato 0,1 M*, utilizzando come indicatore *nero mordente 11 miscela composta R*, fino a viraggio al blu. La differenza, espressa in ml, fra il volume di titolante impiegato nella prova ed il volume corrispondente alla quantità di calcio carbonato contenuta nei 25,0 ml della soluzione 1, rappresenta il volume, in millilitri, di *sodio edetato 0,1 M* equivalente alla quantità di magnesio idrossido presente.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 5,832 mg di Mg(OH)_2 .

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di calcio carbonato e 150 mg di idrossido di magnesio.

CALCIO CLORURO CONCENTRATO STERILE

Calcio cloruro soluzione, fiale da diluire

Il concentrato sterile di calcio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di calcio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 3,68 per cento *m/V*, il 5,00 per cento *m/V* o il 10,00 per cento *m/V* di *Calcio cloruro in Acqua per preparazioni iniettabili* distribuita in fiale da 10 ml.

Contenuto di calcio cloruro ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 6,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 3,5 U.I./ml per una soluzione contenente l'1,0 per cento *m/V*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Cloruri. Diluire 5 ml della soluzione in esame con 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Calcio gluconato preparazione iniettabile

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione, con precauzioni e a velocità controllata di perfusione.

CALCIO CLORURO E MAGNESIO CLORURO CONCENTRATO STERILE

Calcio e magnesio cloruro soluzione da diluire

Il concentrato sterile di calcio cloruro e magnesio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di calcio cloruro e magnesio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 2,9 per cento *m/V* di *Calcio cloruro* e il 6,1 per cento *m/V* di *Magnesio cloruro esaidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di calcio cloruro ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di magnesio cloruro ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 6,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 6,48 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Diluire 5 ml di soluzione con 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

CALCIO GLUCONATO PREPARAZIONE INIETTABILE

Calcio gluconato fiale

La preparazione iniettabile di calcio gluconato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di calcio gluconato è una soluzione sterile di *Calcio gluconato per preparazioni iniettabili* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Può contenere calcio D-saccarato ($C_6H_8CaO_8 \cdot 4H_2O$) o un altro sale di calcio come stabilizzante, in sostituzione di non più del 5 per cento del *calcio gluconato*.
Contenuto di calcio gluconato ($C_{12}H_{22}CaO_{14} \cdot H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando lastre di *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Prelevare un volume di soluzione corrispondente a circa 200 mg di calcio gluconato e diluire a 10 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg di *calcio gluconato SCR* in 1 ml di *acqua R*, se necessario riscaldare a b. m. a 60 °C. Deposare separatamente sulla lastra 5 µl di ogni soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 10 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 10 volumi di *etile acetato R*, 30 volumi di *acqua R* e 50 volumi di *alcool R*. Asciugare la lastra a 100 °C per 20 min. Lasciar raffreddare e spruzzare con una soluzione 50 g/l di *potassio dicromato R* in una soluzione al 40 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Dopo 5 min la macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,0 e 8,2.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 16,7 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione contenente 100 mg di calcio gluconato. Per eliminare l'interferenza positiva del calcio gluconato usare il lisato di 0,03 U.I. di endotossine del Metodo A.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Effettuare la titolazione complessometrica del calcio (2.5.11), usando una quantità di preparazione esattamente misurata e corrispondente a 500 mg circa di calcio gluconato.

1 ml di *sodio edetato 0,05 M* equivale a 22,42 mg di $C_{12}H_{22}CaO_{14} \cdot H_2O$.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- “soluzione ipertonica”,
- il precipitato eventualmente presente può essere disciolto per riscaldamento in acqua calda prima dell'uso,
- il nome e la percentuale di ogni altra sostanza aggiunta.

La preparazione iniettabile contiene il 10,0 per cento m/V di calcio gluconato per preparazioni iniettabili o altre concentrazioni autorizzate.

CALCIO IDROSSIDO EMULSIONE CUTANEA

Linimento oleo-calcareo

L'emulsione cutanea di calcio idrossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

L'emulsione cutanea di calcio idrossido ha la seguente composizione:

<i>Calcio idrossido soluzione cutanea</i>	50 g
<i>Olio di oliva vergine</i>	50 g

Preparazione: mescolare il *Calcio idrossido soluzione cutanea*, con l'*Olio di oliva vergine*, agitando vigorosamente nel recipiente chiuso.

CARATTERI

Emulsione fluida grassa, di colore biancastro o giallo pallido, di odore caratteristico di olio di oliva; con il riposo si separa in due fasi.

IDENTIFICAZIONE

- A. La fase acquosa è alcalina al *tornasole R*.
- B. La fase acquosa dà le reazioni caratteristiche del calcio (2.3.1)

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

CALCIO IDROSSIDO SOLUZIONE CUTANEA

Acqua di calce

La soluzione cutanea di calcio idrossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927)*.

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di calcio idrossido si prepara disperdendo l'1 per cento *m/V* di *Calcio idrossido* in *Acqua depurata*.

Preparazione: aggiungere il *Calcio idrossido* all'*Acqua depurata* bollita di recente e raffreddata a temperatura ambiente. Agitare a lungo e ripetutamente, per circa 1 h, in recipiente ben chiuso; filtrare o lasciare a riposo fino a separazione di una soluzione limpida; prelevare mediante sifonamento.

Contenuto di calcio idrossido ($\text{Ca}(\text{OH})_2$): non meno dello 0,14 per cento *m/V*.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore, di reazione fortemente alcalina. Si intorbida a caldo e diventa di nuovo limpido per raffreddamento. Esposto all'aria assorbe anidride carbonica, formando alla superficie un velo di carbonato di calcio.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà una reazione fortemente alcalina al *tornasole R*.
- B. Dà le reazioni caratteristiche del calcio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Titolare 50,0 ml di preparazione in esame con *acido cloridrico 0,1 M* usando, come indicatore, *fenolfaleina soluzione R*.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 3,705 mg di $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, preferibilmente pieno.

CALCIO IDROSSIDO UNGUENTO

Antiscottature unguento

L'unguento di calcio idrossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*.

DEFINIZIONE

L'unguento di calcio idrossido ha la seguente composizione:

<i>Calcio idrossido soluzione cutanea</i>	25 g
<i>Olio di oliva vergine</i>	25 g
<i>Lanolina</i>	25 g
<i>Vaselina bianca</i>	25 g

CARATTERI

Unguento omogeneo, di consistenza pastosa, con odore caratteristico di olio di oliva.

IDENTIFICAZIONE

Disperdere 5 g di preparazione in esame, scaldando leggermente, in 50 ml di *acqua depurata R*; acidificare quindi con *acido acetico R*. Lasciar raffreddare: la fase acquosa dà le reazioni caratteristiche del calcio (2.3.1).

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce e dal calore.

CANFORA CREMA

Crema canforata

La crema di canfora soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*.

DEFINIZIONE

La crema di canfora ha la seguente composizione:

<i>Canfora racemica</i>	10 g
<i>Macrogol cetostearile etere crema base idrofoba</i>	90 g

Preparazione: incorporare, senza scaldare, la *Canfora racemica* finemente polverizzata in una quantità circa doppia di *Macrogol cetostearile etere crema base idrofoba*; aggiungere il resto della crema base a porzioni successive mescolando sino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Crema bianca, omogenea, di odore caratteristico di canfora.

IDENTIFICAZIONE

A 2 g di preparazione in esame aggiungere 25 ml di *alcool R* e, sotto lenta agitazione, 75 ml di *dinitrofenilidrazina soluzione solforica R*. Scaldare a ricadere per 4 h, lasciar raffreddare e diluire a 200 ml con una soluzione (2 per cento) di *acido solforico R* in *acqua R*. Dopo 24 h raccogliere il precipitato su crogiolo filtrante, lavare bene con *acqua R* ed essiccare a 80 °C. Il dinitrofenilidrazone così ottenuto fonde (2.2.14) a circa 262-264 °C.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

CANFORA SOLUZIONE CUTANEA

Canfora soluzione idroalcolica
Alcool canforato

La soluzione cutanea di canfora soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di canfora contiene il 10 per cento *m/m* di *Canfora racemica* in soluzione idroalcolica (*Acqua depurata* ed *Etanolo 96 per cento* in rapporto 20:80 *m/m*).

Contenuto di canfora (C₁₀H₁₆O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore, con odore di canfora.

IDENTIFICAZIONE

A 2 ml di preparazione in esame aggiungere 25 ml di *alcool R* e, agitando lentamente, 75 ml di *dinitrofenilidrazina soluzione solforica R*. Scaldare a ricadere per 4 h, lasciar raffreddare e diluire a 200 ml con *acido solforico R* al 2 per cento. Dopo 24 h raccogliere il precipi-

tato su crogiolo filtrante, lavare bene con *acqua R* ed essiccare a 80 °C. Il dinitrofenilidrazone così ottenuto fonde (2.2.14) a circa 262-264 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) usando *mentolo R* come standard interno.

Soluzione in esame. Pesare esattamente circa 1 g di preparazione in esame e 0,050 g di *mentolo R* in un matraccio da 100 ml. Portare a volume con *etanolo R*, agitare con un agitatore magnetico per 15 min e filtrare.

Soluzione di riferimento. Pesare esattamente circa 0,1 g di *canfora racemica SCR* e 0,050 g di *mentolo R* in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con *etanolo R* ed agitare con un agitatore magnetico per 15 min e filtrare.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di 0,53 mm impaccata con *poli(dimetil) (difetil) silossano R* (spessore del film 1,5 µ),
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una pressione di 3 psi,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 100 °C fino al momento dell'iniezione, poi aumentarla di 7 °C al minuto fino a 170 °C e mantenerla a 170 °C per 1 min. Mantenere la temperatura della camera di iniezione e del rivelatore a 220 °C.

Iniettare per 3 volte 1 µl di ciascuna soluzione. Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Il saggio è valido solo se, nelle condizioni di analisi, la deviazione standard calcolata dalle iniezioni ripetute della soluzione in esame e della soluzione di riferimento non è superiore al 2 per cento; il numero dei piatti teorici della canfora non è inferiore a 3000/m; la risoluzione fra il picco della canfora e del mentolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, non è inferiore a 1,5.

Calcolare il contenuto percentuale di canfora mediante il metodo dello standard interno (2.2.46).

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce.

CANFORA SOLUZIONE CUTANEA OLEOSA

Canfora soluzione oleosa

La soluzione cutanea oleosa di canfora soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea oleosa di canfora contiene *Canfora racemica* in Olio vegetale.

Contenuto di canfora (C₁₀H₁₆O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido, di colore giallo paglierino, con odore di canfora.

IDENTIFICAZIONE

A 2 ml di preparazione in esame aggiungere 25 ml di alcool R e, sotto lenta agitazione, 75 ml di dinitrofenilidrazina soluzione solforica R. Scaldare a ricadere per 4 h, lasciar raffreddare e diluire a 200 ml con acido solforico R al 2 per cento. Dopo 24 h raccogliere il precipitato su crogiolo filtrante, lavare bene con acqua R ed essiccare a 80 °C. Il dinitrofenilidrazone così ottenuto fonde (2.2.14) a circa 262-264 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), utilizzando mentolo R come standard interno.

Soluzione in esame. Pesare esattamente circa 1 g di preparazione in esame e 0,050 g di mentolo R in un matraccio da 100 ml. Portare a volume con etanolo R, agitare con un agitatore magnetico per 15 min e filtrare.

Soluzione di riferimento. Pesare esattamente circa 0,1 g di canfora racemica SCR e 0,050 g di mentolo R in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con etanolo R, agitare con un agitatore magnetico per 15 min e filtrare.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna in silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di 0,53 mm impaccata con poli(dimetil) (difetil) silossano R (spessore del film 1,5 µ),
- elio per cromatografia R come gas di trasporto ad una pressione di 3 psi,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 100 °C fino al momento dell'iniezione, poi aumentarla di 7 °C al minuto fino a 170 °C e mantenerla a 170 °C per 1 min. Mantenere la temperatura della camera di iniezione e del rivelatore a 220 °C.

Iniettare per 3 volte 1 µl di ciascuna soluzione.

Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Il saggio è valido solo se, nelle condizioni di analisi, la deviazione standard calcolata dalle iniezioni ripetute della soluzione in esame e della soluzione di riferimento, non è superiore al 2 per cento; il numero dei piatti teorici della canfora non è inferiore a 3000/m; la risoluzione fra il picco della canfora e del mentolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, non è inferiore a 1,5.

Calcolare il contenuto percentuale di canfora mediante il metodo dello standard interno (2.2.46).

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce.

La soluzione cutanea oleosa contiene il 10 per cento m/m di canfora racemica.

CANFORA E METILE SALICILATO CREMA

Canfosalicilica crema

La crema di canfora e metile salicilato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema di canfora e metile salicilato contiene *Canfora racemica* e *Metile salicilato* in adeguato eccipiente.

Contenuto di canfora (C₁₀H₁₆O): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di metile salicilato (C₈H₈O₃): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Può contenere un idoneo antimicrobico.

CARATTERI

Crema bianca, omogenea, di odore caratteristico aromatico.

IDENTIFICAZIONE

- A. Dibattere 3 g di preparazione con 10 ml di *acqua R* riscaldata a 40 °C e filtrare. Al filtrato aggiungere 1 goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*: si sviluppa una colorazione violetta.
- B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) mostra due picchi con gli stessi tempi di ritenzione di quelli dovuti alla canfora e al metile salicilato nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), utilizzando *mentolo R* come standard interno.

Soluzione in esame (a). Pesare esattamente circa 1,00 g di preparazione in esame e 0,050 g di *mentolo R* in un contenitore chiuso di idoneo volume; aggiungere 60 ml di *etanolo R* ed agitare con agitatore magnetico fino a completo sfaldamento della crema. Filtrare la soluzione con un filtro a pieghe.

Soluzione in esame (b). Diluire 1 ml di soluzione in esame (a) a 25 ml con *etanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 0,050 g di *canfora racemica R*, 0,050 g di *mentolo R* e 0,050 g di *metile salicilato R* in 100 ml di *etanolo R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml della soluzione di riferimento (a) a 25 ml con *etanolo R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di circa 0,32 mm, rivestita internamente con uno strato di *poli[(dimetil)(difenil)]silossano R* come fase stazionaria,
- *idrogeno per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 2 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 70 °C per 1 min, quindi innalzarla, ad una velocità di 10 °C per minuto fino a 250 °C e mantenerla a 250 °C per 3 min. Mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 280 °C. Iniettare 0,5 µl della soluzione di riferimento (b). Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento. Registrare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se la risoluzione fra il picco della canfora e quello del metile salicilato è almeno 10. Iniettare circa 0,5 µl della soluzione in esame (b). Usando i tempi di ritenzione

determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b), individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b). Non considerare il picco dovuto al solvente e allo standard interno.

Ripetere le iniezioni della soluzione di riferimento (b) e della soluzione in esame (b) fino ad ottenere dei valori riproducibili.

Calcolare il contenuto percentuale dei principi attivi mediante il metodo dello standard interno (2.2.46).

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

La crema contiene il 5 per cento m/m di canfora racemica e il 5 per cento m/m di metile salicilato.

CANFORA, EUCALIPTOLO E MENTOLO UNGUENTO

Balsamico per adulti unguento

L'unguento di canfora, eucaliptolo e mentolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento balsamico contiene il 4,0 per cento *m/m* di *Canfora racemica*, una quantità di *Eucalipto essenza* pari al 2,0 per cento *m/m* di 1,8 cineolo e lo 0,5 per cento *m/m* di *Mentolo racemico* in un unguento base assorbente l'acqua.

L'unguento può contenere un idoneo conservante.

Contenuto di canfora (C₁₀H₆O), 1,8 cineolo e mentolo racemico (C₁₀H₂₀O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento delle quantità indicate.

Preparazione: unire il *Mentolo racemico* e la *Canfora racemica* e fonderli a b.m. A liquefazione avvenuta aggiungere l'*Eucalipto essenza*. Incorporare la miscela ottenuta nell'unguento base fino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Unguento quasi bianco o giallo pallido, omogeneo, di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. I picchi principali nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili, per tempi di ritenzione, ai picchi principali nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. Pesare esattamente circa 2 g di preparazione in un matraccio tarato da 50 ml. Portare a volume con *cloroformio R*, agitare con un agitatore magnetico per 15 min e filtrare.

Soluzione di riferimento. Pesare esattamente circa 0,08 g di *canfora racemica SCR*, 0,04 g di *1,8-cineolo R* e 0,01 g di *mentolo SCR*, in un matraccio tarato da 50 ml. Portare a volume con *cloroformio R*, agitare con un agitatore magnetico per 15 min e filtrare.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di 5,3 mm impaccata con *poli(dimetil) (difenil) silossano R* (spessore del film 1,5 µm),
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad una pressione di 3 psi,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 100 °C fino al momento dell'iniezione, poi aumentarla di 7 °C al minuto fino a 170 °C e mantenerla a 170 °C per 1 min. Mantenere la temperatura della camera di iniezione e del rivelatore a 220 °C.

Iniettare per 3 volte 1 µl di ciascuna soluzione. La determinazione è valida solo se la deviazione standard calcolata dalle iniezioni ripetute della soluzione in esame e della soluzione di riferimento non è superiore al 2 per cento e il fattore di risoluzione tra il picco della canfora e quello del mentolo non è inferiore a 1,5. Calcolare il contenuto percentuale di canfora, 1,8-cineolo e mentolo dal confronto delle aree dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e la soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi.

CARBONE COMPOSTO COMPRESSE

Le compresse di carbone composto soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di carbone composto hanno la seguente composizione:

<i>Carbone attivato</i>	0,30 g
<i>Magnesio idrossido</i>	0,30 g
<i>Calcio carbonato</i>	0,30 g
Eccipienti	q.b.

Contenuto di carbone attivato: non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di magnesio idrossido (Mg(OH)₂): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di calcio carbonato (CaCO₃): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse grigie di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente almeno 10 compresse e sulla polvere ottenuta effettuare le seguenti reazioni di identificazione:

- A. Sospendere una quantità di polvere corrispondente a 50 mg circa di magnesio idrossido in 10 ml di *acido nitrico diluito R*. La soluzione, neutralizzata con *sodio idrossido soluzione diluita R* e filtrata, dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- B. Sospendere una quantità di polvere corrispondente ad 1 g circa di calcio carbonato in *acido cloridrico R*: si ha effervescenza mentre la soluzione filtrata dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Carbone attivato. Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Sospendere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa il peso medio di 1 compressa, in 20 ml di *acqua R* e 20 ml di *acido cloridrico R*. Agitare per 15 min e filtrare

su filtro tarato lavando con 5 ml di *acqua R*. Essiccare a 105 °C per 3 h e determinare il contenuto in carbone attivato pesando il residuo ottenuto.

Calcio carbonato. Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Aggiungere ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 800 mg di calcio carbonato, 50 ml di *acqua R*, 10 ml di *acido cloridrico diluito R*, e scaldare a b.m. per circa 30 min. Raffreddare, filtrare, lavare il residuo con *acqua R*, riunire i filtrati e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

A 20,0 ml di tale soluzione aggiungere 75 ml di *acqua R*, 15 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*, 10 ml di *trietanolammina R* e titolare con *sodio edetato 0,1 M* usando 200 mg di *blu di idrossinaftolo R* come indicatore fino ad ottenere una colorazione blu cupa. 1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 10,01 mg di CaCO_3 .

Magnesio idrossido. Aggiungere a 10,0 ml della soluzione preparata per la determinazione del calcio carbonato, 75 ml di *acqua R*, 20 ml di *tampone soluzione a pH 10,9 R*, 10 ml di *trietanolammina R* e titolare con *sodio edetato 0,1 M* usando come indicatore *nero mordente 11 miscela composta R* fino a viraggio al blu. La differenza, espressa in millilitri, fra il volume di titolante impiegato nella prova ed il volume corrispondente alla quantità di calcio carbonato contenuta nei 10 ml di soluzione di partenza, rappresenta il volume, in millilitri, di *sodio edetato 0,1 M* equivalente alla quantità di magnesio idrossido presente.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 5,832 mg di $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

CARBONE POLVERE PER SOSPENSIONE ORALE

Carbone attivo polvere

La polvere per sospensione orale di carbone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per uso orale (1165).

DEFINIZIONE

La polvere per sospensione orale di carbone ha la seguente composizione:

<i>Carbone attivato</i>	50 g
<i>Magnesio ossido pesante</i>	25 g
<i>Acido tannico</i>	25 g

Contenuto di carbone attivato: non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata.

Preparazione: aggiungere il *Magnesio ossido pesante* e l'*Acido tannico*, opportunamente setacciati, al *Carbone attivato*, mescolando cautamente ed accuratamente.

CARATTERI

Polvere nera di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

- A 60 mg circa di polvere aggiungere 5 ml di *acqua R* e 3 ml di *acido nitrico diluito R*, agitare e filtrare. Al filtrato aggiungere *sodio idrossido soluzione diluita R*: si forma un precipitato bianco di idrossido di magnesio.
- B. A 60 mg circa di polvere aggiungere 5 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. Al filtrato aggiungere *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*. Si sviluppa una intensa colorazione blu-nerastra che scompare per aggiunta di *acido solforico R* mentre si forma un precipitato giallo-bruno.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sospendere una adeguata quantità di polvere, esattamente pesata, in 20 ml di *acqua R* e 20 ml di *acido cloridrico R*. Agitare per 15 min e filtrare su filtro tarato lavando con 5 ml di *acqua R*. Essiccare a 105 °C per 3 h e determinare il contenuto in carbone attivato pesando il residuo ottenuto.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

CARBONE E ALLUMINIO OSSIDO IDRATO POLVERE PER SOSPENSIONE ORALE

Carbone adsorbente antiacido

La polvere per sospensione orale di carbone e alluminio ossido idrato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per uso orale (1165).

DEFINIZIONE

La polvere per sospensione orale di carbone e alluminio ossido idrato ha la seguente composizione:

<i>Carbone attivato</i>	70 g
<i>Alluminio ossido idrato</i>	30 g

Cefalexina capsule

Contenuto di carbone attivato: non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata.

Preparazione: aggiungere l'*Alluminio ossido idrato* al *Carbone attivato*, mescolando cautamente ed accuratamente.

CARATTERI

Polvere nera, di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

Agitare 1 g circa di preparazione con 10 ml di *acido cloridrico diluito R* e filtrare. A 2 ml di filtrato aggiungere 0,5 ml di *tioacetammide soluzione R*: non si forma alcun precipitato; aggiungere, goccia a goccia, *sodio idrossido soluzione diluita R*: si forma un precipitato bianco gelatinoso, che si ridiscoglie in un eccesso di *sodio idrossido soluzione diluita R* per formarsi di nuovo aggiungendo, lentamente, *ammonio cloruro soluzione R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sospendere una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 0,300 g circa di carbone attivato, in 20 ml di *acqua R* e 20 ml di *acido cloridrico R*. Agitare per 15 min e filtrare su filtro tarato lavando con 5 ml di *acqua R*. Essiccare a 105 °C per 3 h e determinare il contenuto in carbone attivato pesando il residuo ottenuto.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

CEFALEXINA CAPSULE

Le capsule di cefalexina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di cefalexina contengono *Cefalexina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di cefalexina (C₁₆H₁₇N₃O₄S): non meno del 93,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide, contenenti una polvere bianca o leggermente paglierina.

IDENTIFICAZIONE

Riunire e mescolare il contenuto di alcune capsule. Ad una quantità di polvere, corrispondente a 0,5 g di cefalexina, aggiungere 1 ml di *acqua R* ed 1,4 ml di *acido cloridrico 1 M*, agitare, filtrare e lavare il filtro con 1 ml di *acqua R*. Aggiungere lentamente al filtrato una soluzione satura di *sodio acetato R* fino ad ottenere un precipitato. Aggiungere 5 ml di *metanolo R*, filtrare e lavare il precipitato raccolto sul filtro con due porzioni successive, ciascuna da 1 ml, di *metanolo R*. Il residuo, essiccato a pressione ridotta, dà le seguenti reazioni di identificazione:

- Mescolare 20 mg con poche gocce di una soluzione (800 ml/l) di *acido solforico R* contenente l'1 per cento *V/V* di *acido nitrico R*: si sviluppa una colorazione gialla.
- Mescolare circa 20 mg con 5 gocce di una soluzione all'1 per cento *V/V* di *acido acetico glaciale R* e 2 gocce di una soluzione (10 g/l) di *rame(-ico) solfato soluzione R* e 1 goccia di *sodio idrossido soluzione diluita R*: si sviluppa una colorazione verde oliva.
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *cefalexina SCR*.

SAGGI

Tempo di disaggregazione (2.9.1). Non superiore a 15 min, utilizzando una soluzione di *acido cloridrico 0,1 M* al posto dell'*acqua R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare il contenuto di almeno 20 capsule. Trasferire una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 100 mg di cefalexina, in un pallone tarato da 100 ml e aggiungere 70 ml di *acqua R*. Agitare per 30 min e diluire a 100 ml con lo stesso solvente, filtrando se necessario. Introdurre in una beuta con tappo a smeriglio 10,0 ml della soluzione, aggiungere 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e lasciare a riposo per 20 min. Aggiungere 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R* preparata di recente, 5 ml di *acido cloridrico 1 M*, e 25,0 ml di *iodio 0,01 M*. Tappare la beuta e lasciare a riposo, al riparo dalla luce, per 20 min. Titolare l'eccesso di iodio con *sodio tiosolfato 0,02 M*,

in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. Prelevare altri 10,0 ml della soluzione iniziale, aggiungere 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R* e 25,0 ml di *iodio 0,01 M*. Lasciare a riposo al riparo dalla luce per 20 min e titolare con *sodio tiosolfato 0,02 M* in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. La differenza tra le due titolazioni rappresenta il volume di *iodio 0,01 M* equivalente alla cefalexina presente. Ripetere la determinazione quantitativa contemporaneamente e nelle stesse condizioni con una quantità esattamente pesata di *cefalexina SCR* per determinare l'esatto equivalente di ogni millilitro di *iodio 0,01 M*.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le capsule contengono 250 mg o 500 mg di cefalexina.

CEFALEXINA COMPRESSE

Le compresse di cefalexina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di cefalexina contengono *Cefalexina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$): non meno del 92,5 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 0,5 g di cefalexina, aggiungere 1 ml di *acqua R* ed 1,4 ml di *acido cloridrico 1 M*, agitare, aggiungere 0,1 g di *carbone attivato R*, agitare, filtrare e lavare il filtro con 1 ml di *acqua R*. Aggiungere lentamente al filtrato una soluzione satura di *sodio acetato R* fino a precipitazione e quindi 5 ml di *metanolo R*. Filtrare e lavare il precipitato con due porzioni successive, ciascuna da 1 ml, di *metanolo R*. Il residuo essiccato nel vuoto ad una pressione di circa 670 Pa dà le seguenti reazioni di identificazione.

- Mescolare circa 20 mg con 0,25 ml di una soluzione (800 ml/l) di *acido solforico R* contenente l'1 per cento *V/V* di *acido nitrico R*: si sviluppa una colorazione gialla.
- Mescolare circa 20 mg con 0,25 ml di una soluzione (10 ml/l) di *acido acetico glaciale R*, 0,1 ml di una soluzione (10 g/l) di *rame(-ico) solfato soluzione R* e 0,1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*: si sviluppa una colorazione verde oliva.
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *cefalexina SCR*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzare finemente. Trasferire una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 250 mg di cefalexina, in un pallone tarato da 250 ml, aggiungere *acqua R* e diluire a 250 ml. Agitare per 30 min e filtrare. Introdurre in una beuta con tappo a smeriglio 10,0 ml della soluzione, aggiungere 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e lasciare a riposo per 20 min. Aggiungere 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,4 R* preparata di recente, 5 ml di *acido cloridrico 1 M*, e 25,0 ml di *iodio 0,01 M*. Tappare la beuta e lasciare a riposo, al riparo dalla luce, per 20 min. Titolare lo iodio in eccesso con *sodio tiosolfato 0,02 M*, in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. Prelevare altri 10,0 ml della soluzione iniziale, aggiungere 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,4 R* e 25,0 ml di *iodio 0,01 M*. Lasciare a riposo al riparo dalla luce per 20 min e titolare con *sodio tiosolfato 0,02 M* in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. La differenza tra le due titolazioni rappresenta il volume di *iodio 0,01 M* equivalente alla cefalexina. Ripetere la determinazione quantitativa contemporaneamente e nelle stesse condizioni con una quantità esattamente pesata di *cefalexina SCR* per determinare l'esatto equivalente di ogni millilitro di *iodio 0,01 M*.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 1 g di cefalexina.

CEFALEXINA GRANULATO PER SOSPENSIONE ORALE

Al granulato di cefalexina si applicano anche i requisiti definiti nelle monografie *Granulati (0499)* e *Preparazioni liquide per uso orale (0672)*.

DEFINIZIONE

Il granulato per sospensione orale di cefalexina contiene *Cefalexina monoidrato* in adeguati eccipienti.

CARATTERI

Polvere o granulato omogeneo, di dimensioni variabili.

Preparazione della sospensione. Al granulato contenuto nel flacone aggiungere acqua fino al segno riportato sul flacone. Chiudere il flacone, agitare energicamente fino alla formazione di una sospensione omogenea.

Contenuto di cefalexina ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$) nella sospensione ricostituita di recente: non meno del 90,0 per cento e non più del 120,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare 1 volume di preparazione in esame, corrispondente a 0,2 g di cefalexina, con 70 ml di *metanolo R* e filtrare. Evaporare a secco il filtrato, disciogliere il residuo in *acido cloridrico 0,5 M* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Soluzione (2 g/l) di *cefalexina SCR* in *acido cloridrico 0,5 M*.

Prima della deposizione eluire la lastra in una vaschetta contenente una soluzione (50 g/l) di *tetradecano R* in *esano R*, per il percorso totale ed asciugare all'aria fino a scomparsa dell'odore dei solventi. Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire in una vasca cromatografica per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 120 volumi di *acido citrico soluzione 0,1 M*, 80 volumi di *sodio fosfato dibasico soluzione 0,2 M* e 3 volumi di *acetone R*. Scaldare a 90 °C per 3 min fino a evaporazione dei solventi e spruzzare ancora la lastra calda con una soluzione (1 g/l) di *ninidrina R* nella fase mobile. Scaldare a 90 °C per 15 min e raffreddare. Il cromatogramma,

ottenuto con la soluzione in esame, presenta una macchia principale corrispondente alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Agitare 1 volume di preparazione in esame, corrispondente a 0,1 g di cefalexina, con 70 ml di *metanolo R*, filtrare ed evaporare a secco il filtrato. Disciogliere il residuo nel minimo volume di una soluzione all'1 per cento V/V di *acido acetico R* e decolorare, se necessario, con *carbone attivato R*, agitare e filtrare. A 0,25 ml del filtrato aggiungere 0,1 ml di una soluzione (10 g/l) di *rame(-ico) solfato R* e 0,05 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*: si sviluppa una colorazione verde oliva.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione è compreso tra 3,0 e 6,0.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore all'1,0 per cento determinata sul granulato a 60 °C nel vuoto.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Trasferire una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a circa 100 mg di cefalexina, in un pallone tarato da 100 ml. Aggiungere *acqua R*, agitare per 30 min, portare a volume e filtrare se necessario. Introdurre 10,0 ml della soluzione ottenuta in una beuta con tappo a smeriglio, aggiungere 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e lasciare a riposo per 20 min. Aggiungere 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,4 R* preparata di recente, 5 ml di *acido cloridrico 1 M* e 25,0 ml di *iodio 0,02 M*. Tappare la beuta e lasciare a riposo per 20 min, al riparo dalla luce. Titolare l'eccesso di iodio con *sodio tiosolfato 0,02 M*, in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. Prelevare altri 10,0 ml della soluzione iniziale, aggiungere 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,4 R* e 25,0 ml di *iodio 0,02 M*. Lasciare a riposo al riparo dalla luce per 20 min e titolare con *sodio tiosolfato 0,02 M* in presenza di *amido soluzione R*, aggiunta verso la fine della titolazione. La differenza tra le due titolazioni rappresenta il volume di iodio equivalente alla cefalexina. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni effettuare una determinazione quantitativa utilizzando *cefalexina SCR*, per determinare l'esatto equivalente di ogni millilitro di *iodio 0,02 M*.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di cefalexina.

Il granulato per sospensione orale contiene cefalexina monoidrato corrispondente al 7,5 per cento m/m di cefalexina.

La sospensione orale, preparata secondo le istruzioni, contiene il 5,0 per cento m/V di cefalexina.

CEFALOTINA SODICA PREPARAZIONE INIETTABILE

Cefalotina sodica polvere sterile
per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di cefalotina sodica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di cefalotina sodica è una soluzione sterile di *Cefalotina sodica* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile di cefalotina sodica nel prescritto volume di solvente.

Cefalotina sodica
per preparazioni iniettabili

La Cefalotina sodica per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La Cefalotina sodica per preparazioni iniettabili è costituita da *Cefalotina sodica* polvere sterile. Può contenere sodio bicarbonato come agente tamponante.

Contenuto di cefalotina sodica ($C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *cefalotina sodica SCR*. Esaminare la sostanza come dispersione in pasticche di *potassio bromuro R*.
- B. Dà la reazione caratteristica (a) del sodio (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere 2,50 g in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) e la sua assorbanza (2.2.25) a 450 nm non è superiore a 0,20.

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 4,5 e 7,0; in presenza di sodio bicarbonato il pH è compreso tra 6,0 e 8,5.

Potere rotatorio (2.2.7). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 1,25 g di cefalotina sodica in *acqua R* e diluire a 25 ml con lo stesso solvente. Il potere rotatorio, calcolato con riferimento alla sostanza anidra ed esente da sodio bicarbonato, è compreso tra $+124^\circ$ e $+134^\circ$.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame (a). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 75,0 mg di cefalotina sodica in *acqua R* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione in esame (b). Diluire 5,0 ml di soluzione in esame (a) a 50,0 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 15,0 mg di *cefalotina sodica SCR* in *acqua R* e diluire a 5,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 50,0 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1,0 ml della soluzione in esame (a) a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (c). Mescolare 1 ml della soluzione in esame (a), 1 ml di *acido cloridrico RI* e 8 ml di *acqua R*. Scaldare a $60^\circ C$ per 12 minuti e raffreddare a temperatura ambiente in un bagno ad acqua e ghiaccio. Iniettare immediatamente.

Soluzione di riferimento (d). Disciogliere 5 mg di *cefalotina SCR per la identificazione dell'impurezza B* in *acqua R* e diluire a 5,0 ml con lo stesso solvente.

Cefalotina sodica preparazione iniettabile

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia disattivato postmodificato (endcapped) R* (5 µm),
- temperatura: 40 °C,
- come fase mobile ad un flusso di 1 ml per minuto:
Fase mobile A: mescolare 30 volumi di *acetone nitrile R1* e 970 volumi di una soluzione contenente 1,742 g/l di *potassio fosfato dibasico R* il cui pH è stato precedentemente portato a 2,5 con *acido fosforico R*,
Fase mobile B: mescolare 400 volumi di *acetone nitrile R1* e 600 volumi di una soluzione contenente 1,742 g/l di *potassio fosfato dibasico R* il cui pH è stato precedentemente portato a 2,5 con *acido fosforico R*.

Tempo (min)	Fase mobile A per cento V/V	Fase mobile B per cento V/V	Commento
0→30	100→0	0→100	gradiente lineare
30→35	0	100	isocratica
35→36	0→100	100→0	gradiente lineare
36→41	100	0	ri-equilibratura

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 220 nm,
- volume di iniezione: 20 µl.

Tempi di ritenzione relativi con riferimento alla cefalotina sodica (tempo di ritenzione = 26 minuti circa): impurezza B = circa 0,7; impurezza D = circa 0,9.

Il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (c) la risoluzione tra i picchi dovuti alla impurezza D e alla cefalotina sodica è almeno 7,0.

Limiti

- *impurezza B (deacetil cefalotina)*: non superiore all'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (1,0 per cento),
- *impurezza D (cefalotina lattone)*: non superiore a 0,5 volte l'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (0,5 per cento),
- *limite di esclusione*: 0,05 volte l'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione (b) (0,05 per cento).

Acqua (2.5.12). Non più di 1,5 per cento, determinata su 0,5 g.

Endotossine batteriche. (2.6.14). Non più di 0,13 U.I./mg.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Sodio bicarbonato (se è presente). Disciogliere circa 1 g di polvere, esattamente pesata, in 50 ml di *acqua R*. Aggiungere *metil arancio soluzione R* e titolare con *acido solforico 0,1 N*.

1 ml di *acido solforico 0,1 N* equivale a 8,401 mg di NaHCO₃.

Cefalotina sodica. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come descritto nel saggio Sostanze correlate con le seguenti modifiche:

- *Fase mobile*: mescolare 140 volumi di *acetone nitrile R* e 860 volumi di una soluzione contenente 6,967 g/l di *potassio fosfato dibasico R* il cui pH è stato precedentemente regolato al valore di 6,0 con *acido fosforico R*;
- volume di iniezione: 5 µl. Iniettare in successione la soluzione di riferimento (a) e la soluzione in esame (b);
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 260 nm;
- durata dell'analisi: 1,5 volte il tempo di ritenzione della cefalotina (tempo di ritenzione = circa 10 minuti).

Calcolare il contenuto di C₁₆H₁₅N₂NaO₆S₂, in un contenitore, utilizzando la massa media rispetto al contenuto dichiarato di C₁₆H₁₅N₂NaO₆S₂ nella *cefalotina sodica SCR*.

CONSERVAZIONE

In recipienti sterili, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di cefalotina sodica espresso in termini di cefalotina.

I flaconi possono contenere cefalotina sodica polvere sterile corrispondente a 1 g di cefalotina; le fiale di solvente possono contenere 4 ml di Acqua per preparazioni iniettabili.

**CETRIMIDE CONCENTRATO
PER SOLUZIONE CUTANEA**

Cetrimide soluzione concentrata

Il concentrato per soluzione cutanea di cetrimide soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

Il concentrato di cetrimide contiene *Cetrimide* in soluzione idroalcolica al 7 per cento.

Contenuto di cetrimide ($C_{17}H_{38}BrN$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida dopo 48 h dalla preparazione; produce un'abbondante schiuma per agitazione.

IDENTIFICAZIONE

- Diluire opportunamente alcuni millilitri della soluzione con *acqua R* ed aggiungere 2 ml di *potassio ferricianuro soluzione R*: si forma un precipitato giallo.
- Diluire opportunamente la soluzione con *acqua R* e a 10 ml della soluzione ottenuta aggiungere 2 ml di una soluzione (100 g/l) di *sodio silicato R*: si forma un precipitato bianco.
- Dà la reazione caratteristica (a) dei bromuri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 2 g circa di cetrimide, a 100,0 ml con *acqua R*. Introdurre 25,0 ml di questa soluzione in un imbuto separatore e aggiungere 25 ml di *cloroformio R*, 10 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 10 ml di una soluzione (50 g/l) di *potassio ioduro R*, preparata di recente. Agitare energicamente, lasciare a riposo ed eliminare la fase cloroformica. Agitare la soluzione acquosa con 3 porzioni successive da 10 ml ciascuna di *cloroformio R* ed eliminare le fasi cloroformiche. Aggiungere 40 ml di *acido cloridrico R*, lasciar raffreddare e titolare con *potassio iodato 0,05 M* fino alla quasi completa scomparsa della colorazione mar-

rone scura. Aggiungere 2 ml di *cloroformio R* e continuare la titolazione, agitando vigorosamente, fino a decolorazione della fase cloroformica. Effettuare una prova in bianco con una miscela di 10 ml di *potassio ioduro soluzione R*, 20 ml di *acqua R* e 40 ml di *acido cloridrico R*.

1 ml di *potassio iodato 0,05 M* equivale a 33,64 mg di $C_{17}H_{38}BrN$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta deve indicare inoltre:

- le soluzioni diluite devono essere preparate al momento dell'uso.

La soluzione concentrata, da utilizzare previa diluizione 1 a 100, contiene il 40 per cento m/V di cetrimide.

CHINIDINA SOLFATO COMPRESSE

Le compresse di chinidina solfato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di chinidina solfato contengono *Chinidina solfato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di chinidina solfato ($C_{40}H_{50}N_4O_8S \cdot 2H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a 0,100 g di chinidina solfato, con 10 ml di una miscela di 2 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *etanolo R* e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,100 g di *chinidina solfato SCR* in una miscela di 2 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *etanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Chinina cloridrato concentrato sterile

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 1 volume di *dietilammina R*, 2 volumi di *acetone R* e 8 volumi di *toluene R*. Seccare la lastra in una corrente di aria e spruzzare con *acido solforico alcoolico 0,05 M* e poi con *iodobismutico reattivo R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 200 mg circa di chinidina solfato, aggiungere 40 ml di *anidride acetica R*, scaldare a b.m. bollente per alcuni minuti, agitare di tanto in tanto e raffreddare. Filtrare, riprendendo quantitativamente con 2 porzioni da 20 ml ciascuna di *anidride acetica R*, titolare con *acido perclorico 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 26,10 mg di $C_{40}H_{50}N_4O_8S \cdot 2H_2O$.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.
Le compresse contengono 200 mg di chinidina solfato.

CHININA CLORIDRATO CONCENTRATO STERILE

Chinina cloridrato fiale da diluire

Il concentrato sterile di chinina cloridrato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato sterile di chinina cloridrato è una soluzione sterile e apirogena di *Chinina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di chinina cloridrato ($C_{20}H_{25}ClN_2O_2 \cdot 2H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente paglierina.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di preparazione in esame, corrispondente a 0,100 g di chinina cloridrato, a 10 ml con una miscela di 2 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *alcool R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,100 g di *chinina solfato SCR* in 10 ml di una miscela di 2 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 8 volumi di *toluene R*, 2 volumi di *acetone R* e 1 volume di *dietilammina R*. Asciugare la lastra all'aria e spruzzare con *acido solforico alcoolico 0,05 M* e poi con *potassio iodobismutato soluzione diluita R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1)

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 1,5 e 3,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 175 U.I. per millilitro di soluzione al 25 per cento *m/V* di chinina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a 500 mg di chinina cloridrato, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 5 ml di *sodio idrossido 5 M*; estrarre con porzioni successive da 10 ml di *cloroformio R*, fino a completa estrazione della chinina, lavando ciascun estratto con 5 ml di *acqua R*. Riunire gli estratti cloroformici e i lavaggi, ed evaporare a secco. Disciogliere il residuo in 50 ml di *acido acetico glaciale R*, aggiungere 20 ml di *anidride acetica R* e titolare con *acido perclorico 0,1 M* in presenza di *cristal violetto soluzione R*. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 19,83 mg di $C_{20}H_{25}ClN_2O_2 \cdot 2H_2O$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

– soluzione concentrata per preparazione iniettabile da usare solo dopo opportuna diluizione.

Il concentrato sterile contiene 250 mg/ml di chinina cloridrato.

CHININA SOLFATO COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di chinina solfato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di chinina solfato contengono *Chinina solfato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di chinina solfato ($C_{40}H_{50}N_4O_8S \cdot 2H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere corrispondente a 250 mg di chinina solfato con 10 ml di *acido solforico diluito R* e filtrare. Il filtrato soddisfa alle reazioni di identificazione seguenti.

- A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di filtrato, corrispondente a 0,100 g di chinina solfato, a 10 ml con *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,10 g di *chinina solfato SCR* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 4 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *dietilammina R*, 24 volumi di *etere R* e 40 volumi di *toluene R*. Seccare la lastra in una corrente di aria per 15 min e ripetere l'eluizione. Seccare la lastra a 105 °C per 30 min, lasciar raffreddare e spruzzare con *iodo-platinico reattivo R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

- B. Il filtrato dà la reazione caratteristica (a) dei solfati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Trasferire una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 250 mg di chinina solfato, in un imbuto separatore contenente 30 ml di *acqua R* e 10 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Estrarre con 4 porzioni da 20 ml ciascuna di *cloroformio R*. Filtrare le fasi organiche riunite, lavare quantitativamente il filtro ed evaporare a secco. Sciogliere il residuo in una miscela formata da 30 ml di *acido acetico anidro R*, 30 ml di *acetone R* e 10 ml di *anidride acetica R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 26,10 mg di $C_{40}H_{50}N_4O_8S \cdot 2H_2O$.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 250 mg di chinina solfato.

CLOFENOTANO POLVERE CUTANEA

La polvere cutanea di clofenotano soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per applicazione cutanea (1166).

DEFINIZIONE

La polvere cutanea di clofenotano contiene *Clofenotano* in adeguati eccipienti.

Contenuto di clofenotano ($C_{14}H_9Cl_5$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Polvere biancastra.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando una lastra ricoperta di uno strato di *gel di silice HF₂₅₄ R*.

Soluzione in esame. Agitare per 5 min una quantità di polvere, corrispondente a circa 100 mg di clofenotano, con 1 ml di *carbonio tetracloruro R* e filtrare.

Soluzione di riferimento. Soluzione (10 g/l) di *p,p'-DDT R* in *carbonio tetracloruro R*.

Cloramfenicolo capsule

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire, per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 80 volumi di *esano R* e 20 volumi di *cloroformio R*. Asciugare la lastra all'aria ed esaminare a luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, presenta una macchia corrispondente, per posizione e dimensioni, a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Agitare a lungo una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 40 mg di clofenotano, con circa 150 ml di *alcool R*, diluire a 200 ml con lo stesso solvente e filtrare. Diluire 5 ml della soluzione ottenuta a 100 ml con *alcool R*. Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento contenente 0,01 g/l di *p,p'*-DDT *R* in *alcool R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni al massimo di assorbimento a 240 nm, usando *alcool R* come bianco. Calcolare il contenuto di C₁₄H₉Cl₅ nel campione in esame, tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In un recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

La preparazione contiene il 10 per cento m/m di clofenotano.

CLORAMFENICOLO CAPSULE

Le capsule di cloramfenicolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di cloramfenicolo contengono *Cloramfenicolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di cloramfenicolo (C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₅): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide, contenenti una polvere bianca.

IDENTIFICAZIONE

Mescolare il contenuto di alcune capsule, corrispondente a circa 1,25 g di cloramfenicolo, con 60 ml di

acqua R agitando. Estrarre con due porzioni successive da 20 ml ciascuna di *etere di petrolio R*. Lavare gli estratti eterici riuniti con due porzioni successive da 15 ml ciascuna di *acqua R*. Estrarre le fasi acquose riunite con quattro porzioni successive da 50 ml ciascuna di *etere R*; riunire gli estratti eterici ed evaporare a secco. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione.

- A. Disciogliere 10 mg del residuo in 2 ml di *alcool al 50 per cento V/V R* ed aggiungere 4,5 ml di *acido solforico diluito R* e 50 mg di *zinco polvere R*. Lasciar riposare per 10 min, decantare il liquido soprannatante e se necessario filtrare. Raffreddare la soluzione in acqua ghiacciata ed aggiungere 0,5 ml di *sodio nitrito soluzione R*. Lasciare a riposo per 2 min ed aggiungere 1 g di *urea R*, 2 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* ed 1 ml di *β-naftolo soluzione R*. Si sviluppa una colorazione rossa. Ripetendo la reazione, omettendo la polvere di zinco, la colorazione rossa non si forma.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,20 g del residuo in 20 ml di *alcool R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 100 mg di *cloramfenicolo SCR* in 10 ml di *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 90 volumi di *cloroformio R*, 10 volumi di *metanolo R* ed 1 volume di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

2-ammino-1-(4-nitrofenil)propan-1,3-diolo. Non più dell'1 per cento del contenuto di cloramfenicolo.

Mescolare il contenuto di alcune capsule. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 750 mg circa di cloramfenicolo, aggiungere 10 ml di *acido cloridrico 1 M*. Estrarre con 30 ml di *etere R*, precedentemente lavato con *acido cloridrico 1 M* e poi con tre successive porzioni di *etere R*, ognuna da 10 ml. Diluire la fase acquosa a 100,0 ml con *acido cloridrico 1 M*. Filtrare e diluire 10,0 ml del filtrato a 100,0 ml con *acido cloridrico 1 M*. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione così ottenuta al massimo di assorbimento a 272 nm circa, usando come bianco *acido clori-*

drico 1 M. Calcolare il contenuto di 2-ammino-1-(4-nitrofenil)propan-1,3-diolo considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 474.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare il contenuto di almeno 20 capsule. Ad una quantità di polvere esattamente pesata e corrispondente a 200 mg circa di cloramfenicolo, aggiungere 800 ml circa di *acqua R* e agitare, scaldando leggermente per facilitare la dissoluzione. Raffreddare, diluire a 1000,0 ml con lo stesso solvente, agitare e filtrare. Diluire 10,0 ml del filtrato a 100,0 ml con *acqua R* e misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 278 nm, usando come riferimento *acqua R*. Calcolare il contenuto di $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 298.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le capsule contengono 250 mg di cloramfenicolo.

CLORAMFENICOLO COLLIRIO SOLUZIONE

Cloramfenicolo soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di cloramfenicolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di cloramfenicolo è una soluzione isotonica sterile avente la seguente composizione:

<i>Cloramfenicolo</i>	5	g
<i>Acido borico</i>	15	g
<i>Borace</i>	3	g
<i>Acqua depurata sterile q.b a</i>	1000	ml

Preparazione. Disciogliere gli eccipienti in *Acqua depurata*, riscaldare a 60 °C, aggiungere il cloramfenicolo sotto agitazione mantenendo la stessa temperatura fino a completa dissoluzione. Raffreddare, portare a volume, sterilizzare per filtrazione. Ripartire in contenitori previamente sterilizzati.

Contiene un adatto antibatterico.

Contenuto di cloramfenicolo ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti al saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con 2 µl della soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,0 e 7,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Il collirio in esame.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 50 mg di *cloramfenicolo SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 0,5 ml della soluzione di riferimento (a) a 100 ml con *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl e 40 µl della soluzione in esame, 2 µl della soluzione di riferimento (a) e 40 µl della soluzione di riferimento (b). Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 1 volume di *acqua R*, 10 volumi di *metanolo R* e 90 volumi di *cloroformio R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con 40 µl della soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

2-ammino-1-(4-nitrofenil)propan-1,3-diolo. Non superiore a 0,25 g/l determinato come segue.

Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 20 mg circa di cloramfenicolo, aggiungere 2,5 ml di *acido cloridrico 1 M*, estrarre con quattro successive porzioni di *etere R*, ognuna da 10 ml. Diluire la fase acquosa a 100,0 ml con *acqua R*. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione così ottenuta al massimo di assorbimento a 272 nm, usando come bianco una soluzione costituita da 5 ml di *acqua R* e 2,5 ml di *acido cloridrico M* saturati con *etere R* e portati a 25 ml con *acqua R*. Calcolare il contenuto di 2-ammino-1-(4-nitrofenil)propan-1,3-diolo considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 474.

Cloramfenicolo unguento oftalmico

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 25 mg circa di cloramfenicolo, a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 25,0 ml con *acqua R*. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 278 nm usando come riferimento *acqua R*. Calcolare il contenuto di $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 298.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

Il collirio contiene lo 0,5 per cento m/V di cloramfenicolo.

CLORAMFENICOLO UNGUENTO OFTALMICO

Cloramfenicolo pomata oftalmica

L'unguento oftalmico di cloramfenicolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

L'unguento di cloramfenicolo è una preparazione sterile avente la seguente composizione:

<i>Cloramfenicolo</i>	10 g
<i>Paraffina liquida</i>	100 g
<i>Vasellina bianca</i>	890 g

Preparazione. Disperdere con tecnica asettica il *Cloramfenicolo*, opportunamente micronizzato e sterilizzato, nella *Paraffina liquida* previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h. Aggiungere quindi, sotto agitazione, la *Vasellina bianca* fusa, previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h, mescolare fino a completa solidificazione e omogenizzazione.

Contenuto in cloramfenicolo ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento di consistenza pastosa, filante, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Aggiungere ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 20 mg circa di cloramfenicolo, 20 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con due porzioni da 5 ml ciascuna di *acqua R*. Filtrare gli estratti acquosi e portare al volume di 10 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg di *cloramfenicolo SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 90 volumi di *cloroformio R*, 10 volumi di *metanolo R* ed 1 volume di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente pesata e corrispondente a 20 mg circa di cloramfenicolo, aggiungere 50 ml di *etere di petrolio R*, agitare ed estrarre con quattro porzioni da 40 ml ciascuna di *acqua R*. Portare gli estratti acquosi riuniti al volume di 200,0 ml con *acqua R*. Filtrare la soluzione e scartare i primi 20 ml di filtrato. Diluire 10,0 ml del filtrato a 50,0 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 278 nm, usando come riferimento *acqua R*. Calcolare il contenuto di $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 298.

CONSERVAZIONE

In un adatto contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce e dal calore.

L'unguento contiene l'1 per cento m/m di cloramfenicolo.

CLORAMFENICOLO PALMITATO SCIROPPO

Lo sciroppo di cloramfenicolo palmitato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di cloramfenicolo contiene *Cloramfenicolo palmitato* in un adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto in cloramfenicolo ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$): non meno del 95,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione bianca.

IDENTIFICAZIONE

Centrifugare un volume di preparazione in esame, equivalente a 100 mg di cloramfenicolo, lavare il residuo solido con *acqua R* ed essiccarlo prima su gel di silice e poi a 100-105 °C per 1 h.

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice silanizzato H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame (a). Disciogliere 50 mg di residuo ottenuto come sopra descritto in una miscela di 1 ml di *sodio idrossido 1 M* e 5 ml di *acetone R* e lasciar riposare per 30 min. Aggiungere 1,1 ml di *acido cloridrico 1 M* e 3 ml di *acetone R*.

Soluzione in esame (b). Disciogliere 10 mg di residuo ottenuto come sopra descritto in *acetone R* e diluire a 5 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 10 mg di *cloramfenicolo SCR* in *acetone R* e diluire a 5 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (d). Disciogliere 10 mg di *acido palmitico R* in *acetone R* e diluire a 5 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 4 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 30 volumi di una soluzione (100 g/l) di *ammonio acetato R* e 70 volumi di *alcool R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria e spruzzarla con una soluzione contenente 0,2 g/l di *diclorofluoresceina R* e 0,1 g/l di *rodamina B R* in *alcool R*. Lasciare seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Le tre

macchie del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (a) sono simili, per posizione, alle macchie principali dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame (b) e le soluzioni di riferimento (c) e (d).

B. Disciogliere 10 mg di residuo ottenuto come sopra descritto in 5 ml di *alcool R* ed aggiungere 4,5 ml di *acido solforico diluito R* e 50 mg di *zinco polvere R*. Lasciare a riposo per 10 min e se necessario decantare il liquido soprannatante o filtrare. Raffreddare la soluzione in acqua ghiacciata ed aggiungere 0,5 ml di *sodio nitrito soluzione R*. Lasciare a riposo per 2 min ed aggiungere 1 g di *urea R*, 2 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R* ed 1 ml di *β-naftolo soluzione R*. Si sviluppa una colorazione rossa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione preparata di recente è compreso tra 4,5 e 7,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione in esame, equivalente a 0,300 g di cloramfenicolo, a 1000,0 ml con *acqua R*, agitare e lasciare a riposo per 10 min. Agitare di nuovo e diluire 5,0 ml della sospensione a 100,0 ml con *alcool R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 271 nm. Calcolare il contenuto di cloramfenicolo palmitato ($C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$) considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 178.

Il contenuto di cloramfenicolo ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$), espresso in g/ml, si calcola con la formula:

$$g \times 0,575$$

g = quantità in grammi di cloramfenicolo palmitato per millilitro di sospensione,

0,575 = equivalenza tra cloramfenicolo palmitato e cloramfenicolo.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene il 2,5 per cento m/V di cloramfenicolo.

CLORAMFENICOLO SODIO SUCCINATO PREPARAZIONE INIETTABILE

Cloramfenicolo sodio succinato polvere
sterile per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di cloramfenicolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parentali (0520).

La preparazione iniettabile di cloramfenicolo è una soluzione sterile di *Cloramfenicolo sodio succinato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile di cloramfenicolo sodio succinato nel prescritto volume di solvente.

Cloramfenicolo sodio succinato
per preparazioni iniettabili

Il Cloramfenicolo sodio succinato per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il cloramfenicolo sodio succinato per preparazioni iniettabili è costituito da *Cloramfenicolo sodio succinato* polvere sterile.

Contenuto di cloramfenicolo ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ per cromatografia su strato sottile R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 20 mg di cloramfenicolo sodio succinato in *acetone R* e diluire a 2 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 20 mg di *cloramfenicolo sodio succinato SCR* in *acetone R* e diluire a 2 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 20 mg di *cloramfenicolo SCR* in *acetone R* e diluire a 2 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm usando una miscela di 1 volume di *acido acetico diluito R*, 14 volumi di *metanolo R* e 85 volumi di

diclorometano R. Asciugare la lastra all'aria. Esaminare alla luce ultravioletta di 254 nm. La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) e le loro posizioni sono differenti da quella della macchia principale ottenuta con la soluzione di riferimento (b).

- B. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 10 mg di cloramfenicolo sodio succinato in 1 ml di una miscela composta da 50 v di *acqua R* e 50 v di *etanolo R*, aggiungere 3 ml di una soluzione (10 g/l) di *calcio cloruro R* e 50 mg di *zinco in polvere R* e scaldare in acqua bollente per 10 min. Filtrare la soluzione a caldo, lasciar raffreddare, aggiungere 0,1 ml di *benzoile cloruro R* e agitare per 1 min. Aggiungere 0,5 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1* e 2 ml di *cloroformio R*. Lo strato acquoso è leggermente colorato da rosso-violaceo a porpora.
- C. Dà la reazione (a) del sodio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 2,50 g di cloramfenicolo sodio succinato in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Il pH della soluzione è compreso tra 6,0 e 7,0.

Cloramfenicolo e cloramfenicolo disodio disuccinato. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 25,0 mg circa di cloramfenicolo sodio succinato nella fase mobile e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10,0 mg di *cloramfenicolo SCR* nella fase mobile e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente (soluzione a). Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10,0 mg di *cloramfenicolo disodio disuccinato SCR* nella fase mobile e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente (soluzione b). Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 25,0 mg circa di cloramfenicolo sodio succinato nella fase mobile, aggiungere 5,0 ml di soluzione (a) e 5,0 ml di soluzione (b) e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile ad un flusso di 1 ml per minuto una miscela di 5 volumi di una soluzione (20 g/l) di acido *fosforico R*, 40 volumi di *metanolo R* e 55 volumi di *acqua R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 275 nm,
- volume di iniezione: 20 µl.

Idoneità del sistema: il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (c) mostra due picchi, corrispondenti a quelli ottenuti con le soluzioni di riferimento (a) e (b), chiaramente separati dai picchi corrispondenti ai due picchi principali ottenuti con la soluzione in esame.

Se necessario aggiustare la concentrazione del metanolo nella fase mobile.

Limiti:

- *cloramfenicolo*: non superiore all'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (2,0 per cento),
- *cloramfenicolo disodio disuccinato*: non superiore all'area del picco principale ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (2,0 per cento).

Acqua (2.5.12). Non più del 5,0 per cento, determinata su 0,500 g mediante il metodo semimicro.

Pirogeni (2.6.8). Soddisfa al saggio per i pirogeni. Iniettare, per chilogrammo di massa corporea del coniglio, 2,5 ml di una soluzione contenente 2 mg/ml di sostanza in *Acqua per preparazioni iniettabili R*.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,2 U.I. di endotossina per mg di cloramfenicolo.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Disciogliere una quantità di polvere, ottenuta miscelando il contenuto di 20 flaconcini equivalente a 0,200 g di cloramfenicolo sodio succinato in *acqua R* e diluire a 500 ml con *acqua R*. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *acqua R* e misurare l'assorbimento (2.2.25) al massimo di assorbimento di 276 nm. Calcolare il contenuto di $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ in un contenitore, utilizzando la massa media, considerando che il valore dell'assorbimento specifica è 297.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di cloramfenicolo sodio succinato espresso in termini di cloramfenicolo.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere cloramfenicolo sodio succinato polvere sterile corrispondente a 1 g di cloramfenicolo; le fiale di solvente contengono 10 ml o i volumi previsti di Acqua per preparazioni iniettabili.

CLORDIAZEPOSSIDO COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di clordiazepossido soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di clordiazepossido contengono *Clordiazepossido cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di clordiazepossido cloridrato ($C_{16}H_{15}Cl_2N_3O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Preparare le soluzioni al riparo dalla luce ed immediatamente prima dell'uso.

Polverizzare alcune compresse e agitare per alcuni minuti una quantità di polvere, corrispondente a circa 40 mg di clordiazepossido cloridrato, con 100 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e diluire a 250,0 ml con lo stesso acido. Filtrare ed eliminare i primi 20 ml del filtrato. Prelevare 5,0 ml del filtrato successivo e diluire a 500 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. La soluzione, esaminata tra 230 nm e 320 nm (2.2.25), mostra due massimi di assorbimento, a 246 nm e a 308 nm.

SAGGI

Sostanze correlate. Eseguire le seguenti operazioni al riparo dalla luce e preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando gel di silice GF₂₅₄ R come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 0,100 g di clordiazepossido cloridrato, con 5 ml di una miscela di 3 volumi di *ammoniaca diluita R1* e 97 volumi di *metanolo R*, centrifugare e usare la soluzione soprannatante.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *amminoclorobenzofenone R* in *metanolo R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 0,5 ml della soluzione in esame a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre sulla lastra, su un primo punto di partenza, 5 µl della soluzione di riferimento (a), su un secondo punto di partenza cinque porzioni, ognuna da 5 µl, della soluzione in esame, lasciando seccare il solvente tra un'applicazione e l'altra, su un terzo punto di partenza 5 µl della soluzione di riferimento (b). Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 1 volume di *ammoniaca concentrata R*, 14 volumi di *metanolo R* e 85 volumi di *cloroformio R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (0,1 per cento). Spruzzare con una soluzione (10 g/l) di *sodio nitrito R* in *acido cloridrico 1 M* (circa 10 ml), preparata di recente, asciugare la lastra in una corrente di aria fredda e spruzzare con una soluzione (4 g/l) di *naftiletilediammina dicloridrato R* in *alcool R*. Un'eventuale macchia viola, corrispondente all'amminoclorobenzofenone, nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame non è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,1 per cento).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare per alcuni minuti una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 40 mg circa di clordiazepossido, con 100 ml circa di *acido cloridrico 0,1 M* e poi diluire a 250,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Filtrare ed eliminare i primi 20 ml del filtrato. Diluire 5 ml del filtrato successivo a 50,0 ml con

acido cloridrico 0,1 M. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta, al massimo di assorbimento a 309 nm circa, utilizzando *acido cloridrico 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di C₁₆H₁₅Cl₂N₃O considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 292.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 20 mg di clordiazepossido cloridrato.

COLOROCHINA FOSFATO COMPRESSE

Le compresse di clorochina fosfato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di clorochina fosfato contengono *Clorochina fosfato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di clorochina fosfato (C₁₈H₃₂ClN₃O₈P₂): non meno del 93,0 per cento e non più del 107,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- Ad una quantità di polvere corrispondente a 0,500 g di clorochina fosfato, aggiungere 5 ml di *acido solforico R* e, con cautela, 0,5 ml di *potassio bicromato soluzione R*: si sviluppa una colorazione rossa.
- Ad una quantità di polvere corrispondente a 25 mg di clorochina fosfato, aggiungere 20 ml di *acqua R*, filtrare e al filtrato aggiungere 8 ml di *acido picrico soluzione R*. Il precipitato, lavato con *acqua R*, con *alcool R* e infine con *etere R*, fonde (2.2.14) tra 206 °C e 209 °C.
- Ad una quantità di polvere corrispondente a circa 250 mg di clorochina fosfato aggiungere 25 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. Al filtrato aggiungere 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e agitare con 3 porzioni successive ciascuna da 10 ml di *etere R*. Lo strato acquoso, acidificato mediante aggiunta di *acido nitrico R*, dà la reazione caratteristica (b) dei fosfati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse.

Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 650 mg di clorochina fosfato, aggiungere 30 ml di *acqua R* e scaldare. Filtrare e lavare il residuo con *acqua R* calda. Aggiungere al filtrato 3 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio idrossido R* ed estrarre con successive porzioni da 20 ml ciascuna di *etere R* fino ad estrazione completa. Lavare gli estratti eteri riuniti (soluzione A) con successive porzioni, da 10 ml ciascuna di *acqua R*, finché i lavaggi acquosi non siano più alcalini alla cartina al *giallo titanio soluzione R*. Riunire i lavaggi acquosi ed estrarre con 25 ml di *etere R*. Aggiungere l'estratto etero alla soluzione A ed evaporare fino ad ottenere un volume di 2-3 ml. Aggiungere 50 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, scaldare fino a dissoluzione della base organica, raffreddare e titolare l'eccesso di acido cloridrico con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore *verde bromocresolo soluzione R*. Eseguire una titolazione in bianco contemporaneamente e nelle stesse condizioni.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 25,79 mg di $C_{18}H_{32}ClN_3O_8P_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 250 mg di clorochina fosfato.

CLORPROMAZINA
COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di clorpromazina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di clorpromazina contengono *Clorpromazina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di clorpromazina cloridrato ($C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$): non meno del 93,0 per cento e non più del 107,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 20 mg di clorpromazina cloridrato, con 10 ml di *cloroformio R*. Centrifugare. La soluzione limpida soddisfa al saggio di identificazione per le fenotiazine mediante cromatografia su strato sottile (2.3.3).

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Soddisfano al saggio le compresse contenenti 25 mg di clorpromazina cloridrato. Polverizzare finemente ogni compressa e aggiungere 5 ml di *acido cloridrico 2 M* e circa 200 ml di *acqua R*. Agitare per 15 min, aggiungere *acqua R* fino al volume di 500,0 ml e filtrare. A 5,0 ml aggiungere 10 ml di *acido cloridrico 1 M* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo a 254 nm usando come riferimento *acido cloridrico 0,1 M*. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 920.

Sostanze correlate. *Eseguire il saggio al riparo dalla luce.* Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a 100 mg di clorpromazina cloridrato, con 10 ml di una miscela di 95 volumi di *metanolo R* e di 5 volumi di *dietilammina R* e filtrare.

Soluzione di riferimento. Diluire 1 ml della soluzione in esame precedente a 200 ml con una miscela di 95 volumi di *metanolo R* e 5 volumi di *dietilammina R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acetone R*, 10 volumi di *dietilammina R* e 80 volumi di *cicloesano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia, nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (0,5 per cento). Trascurare ogni macchia al punto di partenza.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce. Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 50 mg di clorpromazina cloridrato, aggiungere

Clorpromazina preparazione iniettabile

5 ml di *acido cloridrico 2 M* e circa 200 ml di *acqua R*. Agitare per 15 min, aggiungere *acqua R* fino al volume di 500,0 ml e filtrare. A 5,0 ml aggiungere 10 ml di *acido cloridrico M* e portare a 100,0 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 254 nm usando come riferimento *acido cloridrico 0,1 M*. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 920.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 25 mg o 100 mg di clorpromazina cloridrato per compressa.

CLORPROMAZINA PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di clorpromazina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di clorpromazina è una soluzione sterile di *Clorpromazina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili* degassata con azoto *R*.

Contiene adatti agenti tamponanti e stabilizzanti.

Contenuto di clorpromazina cloridrato ($C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o quasi incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Diluire una quantità di preparazione, corrispondente a 50 mg circa di clorpromazina cloridrato, a 25 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio di identificazione per le fenotiazine mediante cromatografia su strato sottile (2.3.3).
- Ad un volume di preparazione, corrispondente a 5 mg di clorpromazina cloridrato, aggiungere 2 ml di *acido solforico R* e lasciare a riposo per 5 min. Si sviluppa una colorazione rossa.

- Ad un volume di preparazione, corrispondente a 100 mg di clorpromazina cloridrato, aggiungere una quantità sufficiente di *potassio carbonato R* tale da saturare la soluzione ed estrarre con 2 porzioni successive, da 10 ml ciascuna, di *etere R*. Evaporare a secco gli estratti eterici riuniti. Disciogliere il residuo in 2 ml di *metanolo R* e versare in una soluzione (40 g/l) di *acido picrico R* in *metanolo R*, precedentemente riscaldata a 50 °C. Raffreddare fino a cristallizzazione, che può essere agevolata per sfregamento della parete interna della provetta, lasciare a riposo per 3-4 h e filtrare.

Punto di fusione (2.2.14) del picrato, dopo lavaggio del residuo con *metanolo R* e essiccamento: 175 °C circa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 6,5.

Sostanze correlate. *Eseguire il saggio al riparo dalla luce.* Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame.

Soluzione di riferimento. Diluire 1 ml della soluzione in esame a 200 ml con una miscela di 5 volumi di *dietilammina R* e 95 volumi di *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acetone R*, 10 volumi di *dietilammina R* e 80 volumi di *cicloesano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Trascurare ogni macchia al punto di partenza.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 86,25 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione all'1,25 per cento *m/V* di clorpromazina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Eseguire il saggio al riparo dalla luce. Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 25 mg di clorpromazina cloridrato, a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Diluire 1,0 ml della soluzione a 50,0 ml con lo stesso solvente. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 254 nm usando come riferimento *acido cloridrico 0,1 M*. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 920.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione contiene l'1,25 per cento m/V di clorpromazina cloridrato.

CLORPROMAZINA SCIROPPO

Lo sciroppo di clorpromazina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di clorpromazina contiene *Clorpromazina cloridrato* in un adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto in clorpromazina cloridrato ($C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido sciropposo limpido.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH è compreso tra 1 e 2,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg circa di clorpromazina cloridrato, a 50,0 ml con *acqua R*. Diluire 5 ml della soluzione a 25 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *clorpromazina cloridrato SCR* nella fase mobile e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm, impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 μ m),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 2 ml per minuto, una miscela ottenuta mescolando 750 ml di *acetonitrile per cromatografia R* con 0,6 ml di *dietilammina R* e diluendo a 1000 ml con *acqua R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm.

Iniettare separatamente 10 μ l di ciascuna soluzione. Registrare i cromatogrammi e determinare le aree dei picchi. Calcolare il contenuto percentuale di $C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene lo 0,5 per cento m/V di *clorpromazina cloridrato*.

CLORPROPAMIDE COMPRESSE

Le compresse di clorpropamide soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse* (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di clorpropamide contengono *Clorpropamide* in adeguati eccipienti.

Contenuto di clorpropamide ($C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 1 g di clorpropamide, con *acetone R*. Filtrare ed evaporare a secco il filtrato. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- A. Disciogliere 0,10 g in *metanolo R* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Diluire 5,0 ml della soluzione a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. Diluire 10,0 ml della soluzione a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. La soluzione, esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 232 nm. L'assorbanza specifica a questo massimo è compresa tra 570 e 630.

Cloxacillina capsule

B. Scaldare 0,1 g con 2 g di *sodio carbonato anidro R* fino a comparsa di colorazione rossa debole e continuare per 10 min. Raffreddare, estrarre il residuo con circa 5 ml di *acqua R*, diluire a 10 ml con *acqua R* e filtrare. La soluzione dà la reazione caratteristica (a) dei cloruri (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. In un pallone tarato da 50 ml agitare a lungo una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 250 mg di clorpropamide, con circa 40 ml di *metanolo R*, portare a volume con lo stesso solvente, filtrare. Diluire 5,0 ml del filtrato a 100 ml con *acido cloridrico 0,1 M*.

Mescolare e diluire 10,0 ml di questa soluzione a 250 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare l'assorbimento (2.2.25) della soluzione ottenuta, al massimo di assorbimento a 232 nm circa, utilizzando *acido cloridrico 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$ considerando che il valore dell'assorbimento specifica è di 600.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 250 mg di clorpropamide.

CLOXACILLINA CAPSULE

Le capsule di cloxacillina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di cloxacillina contengono *Cloxacillina sodica* con adeguati eccipienti.

Contenuto di cloxacillina ($C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$): non meno del 92,5 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide, contenenti una polvere bianca.

IDENTIFICAZIONE

A. Porre una quantità di preparazione, corrispondente a 2 mg circa di cloxacillina, in una provetta lunga circa 150 mm e con diametro di 15 mm.

Inumidire con 0,05 ml di *acqua R* e aggiungere 2 ml di *acido solforico e formaldeide reattivo R*. Mescolare il contenuto ruotando la provetta. Il colore della soluzione è leggermente giallo-verdastro. Porre la provetta a b.m. per 1 min. La soluzione diventa gialla.

B. La preparazione dà la reazione caratteristica (a) del sodio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Prodotti di degradazione. Pesare e mescolare il contenuto di almeno 20 capsule. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 0,250 g circa di cloxacillina, aggiungere 25 ml di *acqua R* e 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento.

Calcolare il contenuto in percentuale dei prodotti di degradazione (*D*), espressi come $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, mediante l'espressione:

$$\frac{0,8718 n}{p}$$

p = massa del campione in grammi,

n = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati.

Cloxacillina. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 50,0 mg circa di cloxacillina, aggiungere 10 ml di *acqua R* e 10,0 ml di *sodio idrossido 1 M* e lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere quindi 10 ml di *acido nitrico 1 M* e 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento. Completare la titolazione entro circa 15 min.

Calcolare il contenuto in percentuale di $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ mediante l'espressione:

$$\frac{0,8718 n_1}{p_1} - D$$

*p*₁ = massa del campione in grammi,

*n*₁ = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati,

D = percentuale dei prodotti di degradazione.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di cloxacillina.

Le capsule contengono 250 mg o 500 mg di cloxacillina.

CLOXACILLINA GRANULATO PER SOLUZIONE ORALE

Al granulato di cloxacillina si applicano anche i requisiti definiti nelle monografie Granulati (0499) e Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Il granulato per soluzione orale di cloxacillina contiene *Cloxacillina sodica* in adeguati eccipienti.

CARATTERI

Polvere o granulato omogeneo, di dimensioni variabili.

Preparazione della soluzione. Al granulato contenuto nel flacone aggiungere acqua fino al segno riportato sul flacone stesso. Chiudere il flacone, agitare energicamente fino alla formazione di una soluzione.

Contenuto di cloxacillina ($C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$) nella soluzione ricostituita di recente: non meno del 90,0 per cento e non più del 120,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire una quantità di preparazione, corrispondente a 50 mg di cloxacillina, in 20 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 7 R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di *cloxacillina sodica SCR* in 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 7 R*.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 30 volumi di *acetone R*, 50 volumi di *carbonio tetracloruro R* e 15 volumi di *acido acetico glaciale R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con una

miscela di 100 volumi di *amido soluzione R*, 6 volumi di *acido acetico glaciale R* e 2 volumi di una soluzione (10 g/l) di *iodio R* in una soluzione (40 g/l) di *potassio ioduro R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e colore, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione preparata come indicato in etichetta è compreso tra 4,0 e 7,0.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 3 per cento determinata sul granulato a 60 °C nel vuoto.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Prodotti di degradazione. Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 0,250 g di cloxacillina, aggiungere 25 ml di *acqua R*. Agitare per 3 min ed aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento.

Calcolare il contenuto in milligrammi per millilitro dei prodotti di degradazione (*D*), espressi come $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, mediante l'espressione:

$$\frac{8,718 n}{v}$$

v = quantità di preparazione in millilitri,

n = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati.

Cloxacillina. Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg di cloxacillina, aggiungere 10 ml di *acqua R*. Agitare per 3 min, aggiungere 10,0 ml di *sodio idrossido 1 M*, lasciare a riposo per 15 min ed aggiungere quindi 10,0 ml di *acido nitrico 1 M* e 20 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento. Completare la titolazione entro circa 15 min.

Cloxacillina sodica preparazione iniettabile

Calcolare il contenuto in percentuale di $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ mediante l'espressione:

$$\frac{8,718 n_1}{v} - D$$

v = quantità di preparazione in millilitri,

n_1 = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati,

D = contenuto, in milligrammi per millilitro, dei prodotti di degradazione.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di cloxacillina.
- il tempo entro il quale la preparazione ricostituita deve essere utilizzata.

Il granulato contiene cloxacillina sodica corrispondente al 3,75 per cento m/m di cloxacillina.

La soluzione orale, preparata secondo le istruzioni contiene il 2,5 per cento m/V di cloxacillina.

CLOXACILLINA SODICA PREPARAZIONE INIETTABILE

Cloxacillina sodica polvere sterile
per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di cloxacillina sodica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di cloxacillina sodica è una soluzione sterile di *Cloxacillina sodica* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile di cloxacillina sodica nel prescritto volume di solvente.

Cloxacillina sodica per preparazioni iniettabili

La cloxacillina sodica per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La cloxacillina sodica per preparazioni iniettabili è costituita da *Cloxacillina sodica* polvere sterile.

Contenuto di cloxacillina ($C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *cloxacillina sodica SCR*. Esaminare la sostanza preparata come dispersione in pastiche.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice silanizzato H R* come sostanza di riferimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 25 mg della sostanza in esame in 5 ml di *acqua R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *cloxacillina sodica SCR* in 5 ml di *acqua R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di *cloxacillina sodica SCR*, 25 mg di *dicloxacillina sodica SCR* e 25 mg di *flucloxacillina sodica SCR* in 5 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm usando una miscela di 30 volumi di *acetone R* e 70 volumi di una soluzione (154 g/l) di *ammonio acetato R*. Aggiustare il pH a 5,0 con *acido acetico glaciale R*.

Asciugare la lastra all'aria. Esporla a vapori di iodio fino a comparsa delle macchie. Esaminare alla luce del giorno. La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) mostra tre macchie chiaramente separate.

- C. Dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

SAGGI

Aspetto della soluzione. La soluzione ottenuta ricostituendo la polvere sterile con la fiala solvente deve essere limpida ed assumere al massimo una colorazione giallo paglierino.

pH (2.2.3). Disciogliere l'equivalente di 2 g di cloxacillina sodica in 20 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame (a). Disciogliere una quantità di prodotto equivalente a 50,0 mg circa di cloxacillina in 50,0 ml di fase mobile.

Soluzione in esame (b). Diluire 5,0 ml della soluzione in esame (a) a 50,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 50,0 mg di *cloxacillina sodica SCR* e diluire a 50,0 ml con la fase mobile. Diluire 5,0 ml di questa soluzione a 50,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 5,0 ml della soluzione in esame (a) a 50,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 5,0 mg di *flucloxacillina sodica SCR* e 5,0 mg di *cloxacillina sodica SCR* nella fase mobile e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad un flusso di 1,0 ml/min, una miscela di 25 volumi di *acetone nitrile R* e 75 volumi di una soluzione (2,7 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* e portare il pH a 5,0 con *sodio idrossido diluito soluzione R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 225 nm,
- volume di iniezione: iniettare rispettivamente 20 µl della soluzione in esame (a) e delle soluzioni di riferimento (b) e (c),
- tempo di eluizione: 5 volte il tempo di ritenzione della cloxacillina.

Idoneità del sistema: iniettare 20 µl della soluzione di riferimento (c): si deve ottenere una risoluzione di almeno 2,5 tra il primo picco corrispondente alla cloxacillina e il secondo corrispondente alla flucloxacillina.

Limiti:

- **ogni impurezza:** non più dell'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (1,0 per cento);

- **impurezze totali:** non più di 5 volte l'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (5,0 per cento);

- **limite di esclusione:** non più di 0,05 volte l'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (0,05 per cento).

Acqua (2.5.12). Tra il 3,0 per cento ed il 4,5 per cento, determinata su 0,300 g mediante il metodo semimicro.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,2 UI di endotossine per mg di cloxacillina sodica.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come descritto nel saggio delle sostanze correlate con la seguente modifica:

volume di iniezione: iniettare rispettivamente 20 µl delle soluzioni in esame (b) e della soluzione di riferimento (a).

Idoneità del sistema: il saggio è valido solo se la deviazione standard ottenuta iniettando sei volte la soluzione di riferimento (a) è al massimo l'1,0 per cento.

Calcolare il contenuto di $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ in un contenitore, utilizzando la massa media rispetto al contenuto dichiarato di $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ nella *cloxacillina sodica SCR*.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di cloxacillina sodica espresso in termini di cloxacillina,
- che la soluzione ricostituita va iniettata immediatamente.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere cloxacillina sodica polvere sterile corrispondente a 500 mg di cloxacillina; le fiale di solvente possono contenere 2 ml di Acqua per preparazioni iniettabili.

CODEINA CAPSULE

Le capsule di codeina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di codeina contengono *Codeina fosfato emiidrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di codeina fosfato emiidrato ($C_{18}H_{24}NO_7P \cdot \frac{1}{2}H_2O$): non meno del 93,0 per cento e non più del 107,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide, contenenti una polvere bianca omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Riunire e mescolare il contenuto di alcune capsule.

- A. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 1 mg circa di codeina fosfato, con 100 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e filtrare. Il filtrato, esaminato allo spettrofotometro tra 250 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un solo massimo di assorbimento a 284 nm circa. L'assorbanza specifica al massimo è circa 38.
- B. In una capsula di porcellana introdurre una quantità di polvere corrispondente a 1 mg circa di codeina fosfato. Aggiungere 0,05 ml di *formaldeide R* e 0,5 ml di *acido solforico R*. Si sviluppa una colorazione che va dal rosso porpora al violetto.

SAGGI

Morfina. Agitare per 15 min una quantità di polvere, corrispondente a circa 100 mg di codeina fosfato emiidrato, con 10 ml di *acqua R* e 2 gocce di *acido solforico diluito R* e filtrare. Ad 1 ml della soluzione limpida aggiungere 1 goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1* e 10 ml di *acqua R* contenenti 50 mg di *potassio ferricianuro R*. Non si deve sviluppare immediatamente una colorazione blu.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Riunire e mescolare il contenuto di almeno 20 capsule. Trasferire una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 60 mg circa di codeina fosfato emiidrato, in un imbuto separatore contenente 30 ml di *acqua R* e 10 ml di *sodio idrossido*

soluzione diluita R ed estrarre con 4 porzioni successive ciascuna da 20 ml di *cloroformio R*. Evaporare a secco gli estratti cloroformici riuniti. Disciogliere il residuo in 2 ml circa di *metanolo R*, scaldando se necessario, e titolare con *acido solforico 0,01 M* in presenza di *rosso metile soluzione R* fino ad ottenere una leggera colorazione rosa. Aggiungere 40 ml circa di *acqua esente da anidride carbonica R* e completare la titolazione con *acido solforico 0,01 M*.

1 ml di *acido solforico 0,01 M* equivale a 8,128 mg di $C_{18}H_{24}NO_7P \cdot \frac{1}{2}H_2O$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le capsule contengono 60 mg di codeina fosfato emiidrato.

CODEINA COMPRESSE

Le compresse di codeina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di codeina contengono *Codeina fosfato emiidrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di codeina fosfato emiidrato ($C_{18}H_{24}NO_7P \cdot \frac{1}{2}H_2O$): non meno del 93,0 per cento e non più del 107,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizza finemente alcune compresse.

- A. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 1 mg circa di codeina fosfato emiidrato, con 100 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e filtrare. Il filtrato, esaminato allo spettrofotometro tra 250 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un solo massimo di assorbimento a 284 nm circa. L'assorbanza specifica al massimo è circa 38.
- B. In una capsula di porcellana introdurre una quantità di polvere corrispondente a 1 mg circa di codeina fosfato emiidrato. Aggiungere 0,05 ml di *formaldeide R* e 0,5 ml di *acido solforico R*. Si sviluppa una colorazione che va dal rosso porpora al violetto.

SAGGI

Morfina. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare per 15 min una quantità di polvere, corrispondente a circa 100 mg di codeina fosfato emiidrato, con 10 ml di *acqua R* e 2 gocce di *acido solforico diluito R* e filtrare. Ad 1 ml della soluzione limpida aggiungere 1 goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1* e 10 ml di *acqua R* contenenti 50 mg di *potassio ferricianuro R*. Non si deve sviluppare immediatamente una colorazione blu.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Trasferire una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 60 mg circa di codeina fosfato emiidrato, in un imbuto separatore contenente 30 ml di *acqua R* e 10 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* ed estrarre con 4 porzioni successive ciascuna da 20 ml di *cloroformio R*. Evaporare a secco gli estratti cloroformici riuniti. Disciogliere il residuo in 2 ml circa di *metanolo R*, scaldando se necessario, e titolare con *acido solforico 0,01 M* in presenza di *rosso metile soluzione R* fino ad ottenere una leggera colorazione rosa. Aggiungere 40 ml circa di *acqua esente da anidride carbonica R* e completare la titolazione con *acido solforico 0,01 M*.

1 ml di *acido solforico 0,01 M* equivale a 8,128 mg di $C_{18}H_{24}NO_7P \cdot \frac{1}{2}H_2O$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 30 mg o 60 mg di codeina fosfato emiidrato.

CODEINA E PARACETAMOLO CAPSULE

Le capsule di codeina e paracetamolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di codeina e paracetamolo contengono *Codeina fosfato emiidrato* o *Codeina fosfato sesquidrato* corrispondente a 30 mg di codeina fosfato e 325 mg di *Paracetamolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di codeina fosfato ($C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide, contenenti una polvere bianca omogenea.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Riunire la polvere contenuta in alcune capsule. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 15 mg circa di codeina fosfato e a 160 mg circa di paracetamolo, con 25 ml di *acqua R* e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Soluzione (0,6 g/l) di *codeina fosfato R*.

Soluzione di riferimento (b). Soluzione (6 g/l) di *paracetamolo SCR* in *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 50 volumi di *benzene R*, 40 volumi di *diossano R*, 2,5 volumi di *alcool R* e 2,5 volumi di *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria. Esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm e quindi esporre ai vapori di iodio per 1 h circa. Le due macchie principali del cromatogramma, ottenuto con la soluzione in esame, sono simili per posizione e intensità, alle macchie principali dei cromatogrammi ottenuti rispettivamente con le soluzioni di riferimento (a) e (b).

B. Riunire la polvere contenuta in alcune capsule. Porre una quantità di polvere, corrispondente a 1 mg circa di codeina fosfato, in una capsula di porcellana, aggiungere 0,05 mg di *formaldeide R* e 0,5 ml di *acido solforico R*: si sviluppa una colorazione che va dal rosso al violetto.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Riunire il contenuto di almeno 10 capsule.

Codeina fosfato. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29), usando come standard interno *propifenazone SCR*.

Soluzione in esame. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 10 mg circa di codeina fosfato, aggiungere 5 ml di una soluzione (0,2 g/l) di

propifenazone SCR e 40 ml di fase mobile; agitare per 20 min circa e diluire a 50,0 ml con la fase mobile. Mescolare e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10,0 mg di *codeina fosfato R* in 5 ml di una soluzione (0,2 g/l) di *propifenazone SCR* e diluire a 50,0 ml con la fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4 mm circa, impaccata con *gel di silice otttilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una miscela di 70 volumi di *metanolo R* e 30 volumi di *acqua R* contenente 1,74 g/l di *sodio pentansolfonato R*, 0,21 g/l di *tetrametilammonio ioduro R* e 14 g/l di *acido acetico glaciale R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Mantenere la colonna a temperatura ambiente.

Iniettare separatamente volumi idonei (compresi tra 10 µl e 20 µl) di ciascuna soluzione, in modo da ottenere una risposta soddisfacente. La prima sostanza ad essere eluita dalla soluzione in esame è il paracetamolo, seguito dalla codeina. Determinare il contenuto di codeina fosfato ($C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$) comparando il relativo picco con quello ottenuto dalla soluzione di riferimento. Nelle verifiche di ripetibilità, il coefficiente di variazione deve essere inferiore al 2 per cento.

Paracetamolo. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 15 mg circa di paracetamolo, aggiungere 80 ml di *alcool R*, agitare per qualche minuto e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Mescolare e filtrare. Diluire 3,0 ml del filtrato a 50,0 ml con *alcool R*. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni preparare una soluzione di riferimento di *paracetamolo SCR* (0,15 g/l) in *alcool R*.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione al massimo di assorbimento a 249 nm. Determinare la quantità di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$) contenuta nella soluzione in esame tenendo conto dell'assorbanza e della concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

CODEINA E PARACETAMOLO COMPRESSE

Le compresse di codeina e paracetamolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di codeina e paracetamolo contengono *Codeina fosfato emiidrato* o *Codeina fosfato sesquidrato* corrispondente a 30 mg di codeina fosfato e 325 mg di *Paracetamolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di codeina fosfato ($C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere corrispondente a 15 mg circa di codeina fosfato e a 160 mg circa di paracetamolo con 25 ml di *acqua R* e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Soluzione (0,6 g/l) di *codeina fosfato R*.

Soluzione di riferimento (b). Soluzione (6 g/l) di *paracetamolo SCR* in *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 50 volumi di *benzene R*, 40 volumi di *diossano R*, 2,5 volumi di *alcool R* e 2,5 volumi di *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria, esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm e quindi esporre ai vapori di iodio per 1 h circa. Le due macchie principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili, per posizione e intensità, alle macchie principali dei cromatogrammi ottenuti rispettivamente con le soluzioni di riferimento (a) e (b).

B. Polverizzare finemente alcune compresse. Porre una quantità di polvere, corrispondente a 1 mg circa di codeina fosfato, in una capsula di porcellana, aggiungere 0,05 mg di *formaldeide R* e 0,5 ml di *acido solforico*: si sviluppa una colorazione che va dal rosso al violetto.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse.

Codeina fosfato. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29), usando come standard interno *propifenazone SCR*.

Soluzione in esame. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 10 mg circa di codeina fosfato, aggiungere 5 ml di una soluzione (0,2 g/l) di *propifenazone SCR* e 40 ml di fase mobile; agitare per 20 min circa e diluire a 50,0 ml con la fase mobile. Mescolare e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10,0 mg di *codeina fosfato R* in 5 ml di una soluzione (0,2 g/l) di *propifenazone SCR* e diluire a 50,0 ml con la fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4 mm circa, impaccata con *gel di silice ottilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una miscela di 70 volumi di *metanolo R* e 30 volumi di *acqua R* contenente 1,74 g/l di *sodio pentansolfonato R*, 0,21 g/l di *tetrametilammonio ioduro R* e 14 g/l di *acido acetico glaciale R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Mantenere la colonna a temperatura ambiente.

Iniettare separatamente volumi idonei (compresi tra 10 µl e 20 µl) di ciascuna soluzione, in modo da ottenere una risposta soddisfacente. La prima sostanza ad essere eluita dalla soluzione in esame è il paracetamolo, seguito dalla codeina. Determinare il contenuto di codeina fosfato ($C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$) comparando il relativo picco con quello ottenuto dalla soluzione di riferimento. Nelle verifiche di ripetibilità, il coefficiente di variazione deve essere inferiore al 2 per cento.

Paracetamolo. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 15 mg circa di paracetamolo, aggiungere 80 ml di *alcool R*, agitare per qualche minuto e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Mescolare e filtrare. Diluire 3,0 ml del filtrato a 50,0 ml con *alcool R*. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni preparare una soluzione di riferimento di *paracetamolo SCR* (0,15 g/l) in *alcool R*.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione al massimo di assorbimento a 249 nm. Determinare la quantità di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$) contenuta nella soluzione in esame tenendo conto dell'assorbanza e della concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

CODEINA E SODIO BENZOATO
SCIROPPO

Lo sciroppo di codeina e sodio benzoato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di codeina e sodio benzoato contiene lo 0,150 per cento *m/V* di *Codeina fosfato sesquidrato* e l'1,0 per cento *m/V* di *Sodio benzoato* in adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di codeina fosfato sesquidrato ($C_{18}H_{24}NO_7P \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio benzoato ($C_7H_5NaO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido sciropposo limpido.

IDENTIFICAZIONE

- A. In un imbuto separatore introdurre un volume di preparazione corrispondente a circa 75 mg di codeina fosfato sesquidrato, aggiungere 10 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* ed estrarre con *cloroformio R*; disidratare gli estratti cloroformici riuniti su *sodio solfato anidro R*, filtrare ed evaporare a b.m. Al residuo aggiungere 0,5 ml di *acido nitrico diluito R*. Si ottiene una colorazione gialla.
- B. Diluire una piccola quantità di preparazione con *acqua R* e aggiungere alcune gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione R3*; si forma un precipitato rosacarnicino.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della preparazione è compreso tra 6,0 e 7,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Codeina fosfato. Ad un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a circa 45 mg di codeina fosfato sesquidrato, aggiungere 30 ml di *acqua R* e 10 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Estrarre con 4 porzioni, ciascuna da 20 ml, di *cloroformio R*.

mio R. Riunire gli estratti cloroformici e filtrare attraverso del cotone imbevuto di *cloroformio R*. Lavare il cotone con altri 10 ml di *cloroformio R*. Riunire le soluzioni cloroformiche, previamente disidratate su *sodio solfato anidro R*, filtrare ed evaporare. Riprendere il residuo con 10 ml di *acido acetico glaciale R* e titolare con *acido perclorico 0,01 M* in presenza di *crystal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,01 M* equivale a 4,244 mg di $C_{18}H_{24}NO_7P \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$.

Sodio benzoato. Ad un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a 0,2 g di sodio benzoato, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 25 ml di *acido solforico diluito R*, agitare ed estrarre con tre porzioni successive, da 20 ml ciascuna, di *etere R*. Raccogliere gli estratti eterici in un imbuto separatore dove si lavano con due porzioni, ciascuna da 10 ml, di *acqua R*. Disidratare su *sodio solfato anidro R* gli estratti eterici riuniti e lavarli; filtrare ed evaporare a b.m. Riprendere il residuo con 30 ml di *alcool R* neutralizzato; titolare con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore *fenolftaleina soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 14,41 mg di $C_7H_5O_2Na$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

COLCHICINA COMPRESSE

Le compresse di colchicina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di colchicina contengono *Colchicina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di colchicina ($C_{22}H_{25}NO_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Su un disco bianco mescolare una quantità di polvere, corrispondente a circa 1 mg di colchicina, con 0,2 ml di *acido solforico R*; si sviluppa una colorazione giallo-citrina che,

per aggiunta di una goccia di *acido nitrico R*, vira all'azzurro-verde divenendo, poi, rapidamente rossa ed infine gialla o quasi incolore; per aggiunta di *sodio idrossido 5 M* si sviluppa una colorazione rossa.

SAGGI

Operare al riparo della luce e rapidamente.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa, aggiungere *alcool R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Agitare e filtrare. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 351 nm circa, utilizzando *alcool R* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{22}H_{25}NO_6$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 438.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce e rapidamente.

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 2 mg di colchicina, con 50 ml di *alcool R* e diluire a 200,0 ml con lo stesso solvente; agitare e filtrare. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 351 nm circa, utilizzando *alcool R* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{22}H_{25}NO_6$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 438.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 0,5 mg di colchicina.

CORTISONE COMPRESSE

Le compresse di cortisone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di cortisone contengono *Cortisone acetato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di cortisone acetato ($C_{23}H_{30}O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare per alcuni minuti una quantità di polvere, corrispondente a circa 200 mg di cortisone acetato, con 40 ml di *cloroformio R*, filtrare e far evaporare il cloroformio. Il residuo, dopo essiccamento a 100-105 °C per 2 h, soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *cortisone acetato SCR*. Se gli spettri ottenuti allo stato solido mostrano differenze, registrare ulteriori spettri utilizzando soluzioni (50 g/l) della sostanza in esame e della sostanza di riferimento in *diclorometano R* con una cella di 0,2 mm.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando appropriate lastre di gel di silice con un indicatore di fluorescenza che abbia un'intensità ottimale a 254 nm.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di residuo, corrispondente a circa 10 mg di cortisone acetato, in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 20 mg di *cortisone acetato SCR* in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *idrocortisone acetato SCR* nella soluzione di riferimento (a) e diluire a 10 ml con la stessa soluzione.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Preparare la fase mobile aggiungendo una miscela di 1,2 volumi di *acqua R* ed 8 volumi di *metanolo R* ad una miscela di 15 volumi di *etere R* e 77 volumi di *diclorometano R*. Eluire per un percorso di 15 cm. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Spruzzare con *acido solforico soluzione alcoolica R*. Scaldare a 120 °C per 10 min o fino alla comparsa delle macchie. Esaminare la lastra alla luce del giorno ed alla luce ultravioletta a 365 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore alla luce del giorno, fluorescenza alla luce ultravioletta a 365 nm e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie nettamente separate.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo della luce.

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Sospendere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di una compressa, in un imbuto separatore in 15 ml di *acqua R* ed estrarre con 4 porzioni rispettivamente da 100, 50, 40 e 30 ml di *cloroformio R*, filtrando ciascuna porzione, attraverso un batuffolo di ovatta bagnato con *cloroformio R*, in un matraccio tarato da 250,0 ml. Portare a volume con *cloroformio R* caldo, prelevare 7 ml della soluzione e portare rapidamente a secco. Sciogliere il residuo con 15 ml circa di *alcool esente da aldeide R* caldo, raffreddare e portare al volume di 20 ml con *alcool esente da aldeide R*. Contemporaneamente, nelle stesse condizioni, preparare una soluzione di confronto di *cortisone acetato SCR*. In due palloncini tarati da 25 ml, introdurre rispettivamente 10 ml della soluzione in esame e 10 ml della soluzione di riferimento ed aggiungere a ciascun pallone 2 ml di *trifenilte-trazolio cloruro soluzione R*. Eliminare l'aria dai palloncini mediante una corrente di *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere immediatamente 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* ed eliminare di nuovo l'aria mediante *azoto esente da ossigeno R*. Tappare i palloni, mescolare agitando leggermente e lasciare a riposo a b.m. a 35 °C per 1 h. Raffreddare rapidamente, portare al volume di 25 ml con *alcool esente da aldeide R*, mescolare e misurare le assorbanze (2.2.25) delle soluzioni al massimo di assorbimento a 485 nm circa, utilizzando come bianco 10 ml di *alcool esente da aldeide R* trattati alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $C_{23}H_{30}O_6$ tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 25 mg di cortisone acetato.

DESAMETASONE COMPRESSE

Le compresse di desametasone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di desametasone contengono *Desametasone* in adeguati eccipienti.

Contenuto di desametasone ($C_{22}H_{29}FO_5$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

Effettuare tutte le operazioni al riparo dalla luce.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente un'opportuna quantità di compresse. Mescolare una quantità di polvere, corrispondente a circa 20 mg di desametasone, con 5 ml di *sodio idrossido 0,1 M*, aggiungere 50 ml di *diclorometano R* e mescolare con l'aiuto di un bagno a ultrasuoni per 20 min. Filtrare ed evaporare a secco usando un evaporatore rotante.

Il residuo, dopo essiccamento a 100-105 °C per 2 h, soddisfa i seguenti saggi di identificazione:

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *desametasone SCR*.
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando appropriate lastre di gel di silice con un indicatore di fluorescenza che abbia un'intensità ottimale a 254 nm.

Soluzione in esame. Disciogliere circa 10 mg di residuo, in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 20 mg di *desametasone SCR* in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *betametasone SCR* nella soluzione di riferimento (a) e diluire a 10 ml con la stessa soluzione.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm con una miscela di 5 volumi di *butanolo R* saturato con *acqua R*, 10 volumi di *toluene R* e 85 volumi di *etero R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Spruzzare con *acido solforico soluzione alcoolica R*. Scaldare a 120 °C per 10 min o fino alla comparsa delle macchie. Lasciar raffreddare. Esaminare la lastra alla luce del giorno ed alla luce ultravioletta a 365 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore alla luce del giorno, fluorescenza alla luce ultravioletta a 365 nm e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie nettamente separate.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse e pesare una quantità di polvere corrispondente a 2,5 mg circa di desametasone. Aggiungere 10 ml di *acetone R*, mescolare con l'aiuto di un bagno a ultrasuoni e filtrare attraverso un filtro (0,45 µm). Diluire 4 ml del filtrato a 10 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con la fase mobile A.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 2 mg di *desametasone SCR* e 2 mg di *metilprednisolone SCR* nella fase mobile A e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm, impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 2,5 ml al minuto:

Fase mobile A: una soluzione al 15 per cento V/V di *acetone R* in *acqua R*;

Fase mobile B: *acetone R*,

- un programma di gradiente lineare con le seguenti condizioni:

Tempo (min)	Fase mobile A per cento V/V	Fase mobile B per cento V/V	Commento
—	—	—	—
0	100	0	isocratica
15	100→0	0→100	inizio del gradiente lineare
40	0	100	fine del cromatogramma ritorno a 100 di A
41	100	0	inizio dell'equilibratura con A
46 = 0	100	0	fine dell'equilibratura, inizio del cromatogramma successivo

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm.

Mantenere la temperatura della colonna a 45 °C.

Equilibrare la colonna per almeno 30 min con la fase mobile B ad una velocità di flusso di 2,5 ml al minuto e poi per almeno 5 min con la fase mobile A. Per i cromatogrammi successivi, per equilibrare la colonna, usare le condizioni prescritte da 40,0 min a 46,0 min.

Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento (b). Quando i cromatogrammi sono registrati nelle condizioni prescritte i tempi di ritenzione sono: metilprednisolone 13 min circa e desametasone 16 min circa. Il saggio è valido solo se la risoluzione tra i picchi corrispondenti a metilprednisolone e desametasone è almeno 2,8. Se necessario aggiustare la concentrazione di acetonitrile nella fase mobile A.

Iniettare 20 µl della fase mobile A, della soluzione in esame e della soluzione di riferimento (a). Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame l'area di ogni picco, ad eccezione del picco principale, non è superiore a 0,5 volte l'area del picco principale ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,5 per cento); la somma dell'area di tutti i picchi, ad eccezione del picco principale, non è superiore all'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (1,0 per cento). Trascurare ogni picco dovuto alla fase mobile A e ogni picco con un'area inferiore a 0,05 volte l'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,05 per cento).

Uniformità di contenuto (2.9.6). Le compresse soddisfano ai requisiti indicati nella monografia *Compresse (0478)* determinati utilizzando il metodo di analisi riportato di seguito.

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) utilizzando le soluzioni seguenti.

Soluzione in esame. Ad una compressa da 0,5 mg aggiungere 20,0 ml di una soluzione al 50 per cento V/V di metanolo R in acqua R. Agitare per 10 min e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 12,5 mg di desametasone SCR in una soluzione al 50 per cento V/V di metanolo R in acqua R e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Diluire 1 ml della soluzione a 10 ml con la soluzione al 50 per cento V/V di metanolo R in acqua R.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,20 m e del diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile una soluzione al 47 per cento V/V di metanolo R in acqua R con una velocità di flusso di 1,4 ml per minuto,

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 238 nm.

Calcolare il contenuto di C₂₂H₂₉FO₅ in ogni compressa usando il contenuto di C₂₂H₂₉FO₅ dichiarato nel *desametasone SCR*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Usare la media di dieci risultati singoli ottenuti nel saggio Uniformità di contenuto.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce e dall'umidità.

Le compresse possono contenere 0,5 mg di desametasone.

DESTROMETORFANO COMPRESSE MASTICABILI

Le compresse masticabili di destrometorfano soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse masticabili di destrometorfano contengono *Destrometorfano bromidrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di destrometorfano bromidrato (C₁₈H₂₆BrNO.H₂O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere corrispondente a circa 10 mg di destrometorfano bromidrato aggiungere 70 ml di acqua R, agitare per 10 min, diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Agitare di nuovo e filtrare. La soluzione esaminata allo spettrofotometro (2.2.25) tra 230 nm e 350 nm, presenta un solo massimo di assorbimento a 278 nm.

Destrometorfano gocce orali

B Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere esattamente pesata e corrispondente a 30 mg di destrometorfano bromidrato, aggiungere 30 ml di *metanolo R*. Agitare e filtrare. Evaporare a secco il filtrato e disciogliere il residuo in 3 ml di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Soluzione di *destrometorfano bromidrato SCR* (10 g/l) in *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1,0 ml della soluzione in esame a 200,0 ml con *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 25 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm circa usando una miscela di 55 volumi di *toluene R*, 20 volumi di *etile acetato R*, 13 volumi di *metanolo R*, 10 volumi di *diclorometano R* e 2 volumi di *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R2* fino a comparsa delle macchie e, immediatamente dopo, con una miscela di 10 volumi di *idrogeno perossido 30 per cento R* e 20 volumi di *acqua R*. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 10 mg di destrometorfano bromidrato, aggiungere 70 ml di *metanolo R*. Agitare per 30 min, diluire a 100,0 ml con *metanolo R* e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 100 mg di *destrometorfano bromidrato SCR* in *metanolo R* e diluire a 100,0 ml con *metanolo R*. Prelevare 10,0 ml e diluire a 100 ml con *metanolo R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una soluzione contenente 3,11 g/l di *sodio docusato R* e 0,56 g/l di *ammonio nitrato R* in una miscela di 70 volumi di *acetone R* e 30 volumi di *acqua R* precedentemente aggiustata a pH 3,4 con *acido acetico anidro R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare per 6 volte 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. Il saggio è valido solo se la deviazione standard relativa delle aree del picco del destrometorfano bromidrato non è superiore all'1,5 per cento e se la risoluzione fra il picco del destrometorfano bromidrato e quelli eventuali dovuti agli eccipienti è almeno 2,0; se necessario aggiustare la concentrazione della fase mobile in modo da ottenere la risoluzione richiesta. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. Iniettare 20 µl della soluzione in esame e registrare il cromatogramma. Calcolare il contenuto di $C_{18}H_{26}BrNO \cdot H_2O$ dalle aree dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e la soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 7,65 mg di destrometorfano bromidrato.

DESTROMETORFANO GOCCE ORALI

Le gocce orali di destrometorfano soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo gocce orali di destrometorfano contengono *Destrometorfano bromidrato* in un adeguato eccipiente aromatizzato.

Possono contenere un idoneo conservante.

Contenuto di destrometorfano bromidrato ($C_{18}H_{26}BrNO.H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido, limpido o lievemente opalescente.

IDENTIFICAZIONE

A. In un imbuto separatore da 250 ml diluire 10 ml di soluzione con 30 ml di *acqua R*. Aggiungere 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 40 ml di *esano R*, agitare e lasciare separare le fasi. Separare la fase organica e raccoglierla in un pallone da 150 ml dopo filtrazione su *sodio solfato anidro R*. Estarre la fase acquosa con altri 40 ml di *esano R* che, dopo passaggio su *sodio solfato anidro R*, si riuniscono al primo estratto.

Gli estratti organici riuniti se evaporano a secco, a 50 °C in corrente di *azoto R*. Riprendere il residuo con 10 ml di *cloroformio R*: la soluzione osservata al polarimetro è destrogira.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

C. Dà la reazione caratteristica (a) dei bromuri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.3.1). Il pH della soluzione è compreso tra 4,0 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Introdurre un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a 30 mg circa di destrometorfano bromidrato, in un pallone tarato da 10,0 ml e diluire a 100,0 ml con la fase mobile. Prelevare 10,0 ml di questa soluzione e diluire a 100,0 ml con la fase mobile. Agitare e filtrare (0,45 µm).

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 30 mg di *destrometorfano bromidrato SCR* in 100,0 ml di fase mobile. Prelevare 10,0 ml di questa soluzione e diluire a 100,0 ml con la fase mobile. Agitare e filtrare (0,45 µm).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,125 m e con diametro interno di 4 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (4 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una miscela di 50 volumi di *acetone nitrile R* e 50 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 3,2 R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm.

Far equilibrare la colonna per almeno 20 min con la fase mobile. Iniettare 20 µl di entrambe le soluzioni. Iniettare per tre volte sia la soluzione in esame che la soluzione di riferimento. Il saggio è valido solo se la deviazione standard del picco del destrometorfano bromidrato non è superiore al 2 per cento. Calcolare il contenuto in percentuale di $C_{18}H_{26}BrNO.H_2O$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

Le gocce orali contengono l'1,5 per cento m/V di destrometorfano bromidrato.

DESTROMETORFANO SCIROPPO

Lo sciroppo di destrometorfano soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di destrometorfano contiene *Destrometorfano bromidrato* in un adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di destrometorfano bromidrato ($C_{18}H_{26}BrNO.H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido sciropposo, limpido o lievemente opalescente.

IDENTIFICAZIONE

A. In un imbuto separatore da 250 ml diluire 50 ml di preparazione con 20 ml di *acqua R*. Aggiungere 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 40 ml di *esano R*, agitare e lasciare separare le fasi. Separare la fase organica e raccoglierla in un pallone da 150 ml dopo filtrazione su *sodio solfato anidro R*. Estrarre la fase acquosa con altri 40 ml di *esano R* che, dopo passaggio su *sodio solfato anidro R*, si riuniscono al primo estratto.

Gli estratti organici riuniti si evaporano a secco, a 50 °C, in corrente di *azoto R*. Riprendere il residuo con 10 ml di *cloroformio R*: la soluzione osservata al polarimetro e destogira.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

C. Dà la reazione caratteristica (a) dei bromuri (2.3.1.).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH è compreso tra 3,0 e 5,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Introdurre un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a 30 mg circa di destrometorfano bromidrato, in un matraccio tarato da 100,0 ml e portare a volume con la fase mobile. Prelevare 10,0 ml di questa soluzione e diluire a 100,0 ml con la fase mobile. Agitare e filtrare (0,45 µm).

Soluzione di riferimento. Disciogliere 30 mg di *destrometorfano bromidrato SCR* in 100,0 ml di fase mobile. Prelevare 10,0 ml di questa soluzione e diluire a 100,0 ml con la fase mobile. Agitare e filtrare (0,45 µm).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,125 m e con diametro interno di 4 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (4 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una miscela di 50 volumi di *acetone R* e 50 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 3,2 R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm.

Equilibrare la colonna per almeno 20 min con la fase mobile. Iniettare 20 µl di entrambe le soluzioni. Iniettare per tre volte sia la soluzione in esame che la soluzione di riferimento. Il saggio è valido solo se la deviazione standard del picco del destrometorfano bromidrato nelle repliche della soluzione in esame e della soluzione di riferimento, non è superiore al 2 per cento. Calcolare il contenuto percentuale di $C_{18}H_{26}BrNO.H_2O$ nella soluzione in esame.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene lo 0,3 per cento m/V di destrometorfano bromidrato.

DEXPANTENOLO CREMA

La crema al dexpantenolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema di dexpantenolo ha la seguente composizione:

<i>Dexpantenolo</i>	5 g
<i>Acqua depurata</i>	5 g
Crema base idrofila	90 g

Preparazione: per facilitare il prelievo, scaldare cautamente a b.m. il *Dexpantenolo* nel proprio contenitore chiuso. Disciogliere la quantità occorrente di *Dexpantenolo* in una eguale massa di *Acqua depurata*, bollita di recente. Incorporare la soluzione così ottenuta, a porzioni, nella crema base, mescolando in capsula fino a completa omogeneizzazione.

Può anche essere impiegata *Anfifila crema base*.

CARATTERI

Crema bianca, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Aggiungere a 1 g circa di preparazione 5 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. Il filtrato per aggiunta di 1-2 gocce di *ferro(-ico) soluzione R1*, dà una colorazione gialla.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

DEXPANTENOLO COMPOSTO CREMA

La crema di dexpantenolo composto soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema di dexpantenolo composto ha la seguente composizione:

Dexpantenolo	5 g
Olio di fegato di merluzzo, tipo A o tipo B	20 g
Acqua depurata	5 g
Anfifila crema base	70 g

Preparazione: per facilitare il prelievo, scaldare cautamente a b.m. il Dexpantenolo nel proprio contenitore chiuso. Disciogliere la quantità occorrente di Dexpantenolo in una eguale massa di Acqua depurata, bollita di recente. Incorporare la soluzione così ottenuta, a porzioni, nella crema base, mescolando in capsula. Aggiungere successivamente, nella stessa capsula, l'Olio di fegato di merluzzo, tipo A (o tipo B), mescolando sino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Crema giallo pallida, omogenea, di odore caratteristico di olio di fegato di merluzzo.

IDENTIFICAZIONE

Aggiungere a 1 g circa di preparazione 5 ml di acqua R, agitare e filtrare. Il filtrato, per aggiunta di 1-2 gocce di ferro(-ico) soluzione RI, dà una colorazione gialla.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

DEXPANTENOLO CREMA IDROFOBA**Dexpantenolo crema grassa**

La crema idrofoba al dexpantenolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema idrofoba di dexpantenolo ha la seguente composizione:

Dexpantenolo	5 g
Alcooli di lanolina unguento base	58 g
Trigliceridi saturi a catena media	7 g
Acqua depurata	30 g

Preparazione: per facilitare il prelievo scaldare cautamente a b.m. il Dexpantenolo nel proprio contenitore chiuso. Disciogliere la quantità occorrente di Dexpantenolo in 10 g di Acqua depurata, bollita di recente. A parte, scaldare a b.m. a circa 60 °C Alcooli di lanolina unguento base e i Trigliceridi saturi a catena media; aggiungere 20 g di Acqua depurata bollita di recente e portata alla stessa temperatura; agitare lentamente sino a raffreddamento. Incorporare nella crema così ottenuta la soluzione acquosa di Dexpantenolo, suddivisa in porzioni appropriate, reintegrando eventualmente l'acqua evaporata.

CARATTERI

Crema grassa bianca, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

A 1 g circa di preparazione aggiungere 5 ml di acqua R, agitare e filtrare. Aggiungere al filtrato 1-2 gocce di ferro(-ico) soluzione RI, si sviluppa una colorazione gialla.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

DIAZEPAM COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di diazepam soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di diazepam contengono Diazepam in adeguati eccipienti.

Contenuto di diazepam (C₁₆H₁₃ClN₂O): non meno del 95,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

A. Polverizzare alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 10 mg di diazepam, con 10 ml di acetone R. Decantare, evaporare in corrente di azoto R e disciogliere il residuo

Diazepam preparazione iniettabile

in 2 ml di *acido solforico R*. La soluzione presenta una fluorescenza giallo-verde alla luce ultravioletta a 365 nm.

- B. La soluzione ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 230 nm e 330 nm (2.2.25) mostra due massimi di assorbimento a circa 242 nm e a circa 284 nm.

SAGGI

Preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso e al riparo dalla luce.

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa. Aggiungere 5 ml di *acqua R*, agitare e lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere 90 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido solforico R* in *metanolo R*, agitare per 15 min, diluire a 100,0 ml con la stessa soluzione e filtrare. Diluire 10,0 ml a 50,0 ml con lo stesso solvente. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 284 nm usando come riferimento la soluzione (5 g/l) di *acido solforico R* in *metanolo R*. Calcolare il contenuto di $C_{16}H_{13}ClN_2O$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 446.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 50 mg di diazepam, con 20 ml di *alcool R* e filtrare.

Soluzione di riferimento. Diluire 1 ml della soluzione in esame a 50,0 ml con *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 12 cm usando una miscela di 50 volumi di *etile acetato R* e 50 volumi di *esano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso e al riparo dalla luce. Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 10,0 mg circa di diazepam, aggiungere 5 ml di *acqua R*, agitare e lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere 90 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido solforico R* in *metanolo R*, agitare

per 15 min, diluire a 100,0 ml con la stessa soluzione e filtrare. Diluire 10,0 ml a 100,0 ml con lo stesso solvente. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 284 nm usando come riferimento lo stesso solvente. Calcolare il contenuto di $C_{16}H_{13}ClN_2O$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 446.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 5 mg di diazepam.

DIAZEPAM PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di diazepam soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di diazepam è una soluzione sterile e apirogena di *Diazepam* in adeguato solvente.

Contenuto di diazepam ($C_{16}H_{13}ClN_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o lievemente gialla.

IDENTIFICAZIONE

- A. *Proteggere le soluzioni dalla luce e misurare l'assorbanza immediatamente dopo la preparazione.*

Diluire una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg di diazepam, a 250 ml con una soluzione (5 g/l) di *acido solforico R* in *metanolo R*. Diluire 25 ml della soluzione a 100 ml con lo stesso solvente. La soluzione, esaminata tra 325 nm e 400 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 368 nm circa.

- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 50 mg circa di diazepam,

aggiungere 20 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 (0,067 M) R*. Estrarre con quattro porzioni successive da 20 ml ciascuna di *cloroformio R*. Riunire le fasi organiche, essiccare su *sodio solfato anidro R* e diluire a 100 ml con *cloroformio R*. Evaporare a secco 50 ml e riprendere il residuo con 1 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di *diazepam SCR* in 5 ml di *cloroformio R*.

Deporre separatamente 0,03 ml di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 1 volume di *etile acetato R* ed un volume di *eptano R*. Seccare la lastra in corrente d'aria tiepida ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,2 e 7,4.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 87,7 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,5 per cento *m/V* di diazepam.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce. Aggiungere ad un volume di preparazione, esattamente misurato e contenente 10 mg circa di diazepam, 20 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 (0,067 M) R*. Estrarre con quattro porzioni successive da 20 ml ciascuna di *cloroformio R*. Riunire le fasi organiche, essiccare su *sodio solfato anidro R* e diluire a 100 ml con *cloroformio R*. Evaporare a secco, in corrente di azoto, 10 ml, sciogliere il residuo in 25 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido solforico R* in *metanolo R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 368 nm usando come riferimento lo stesso solvente. Calcolare il contenuto di $C_{16}H_{13}ClN_2O$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 151.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione contiene lo 0,5 per cento m/V di diazepam.

DIFENIDRAMINA COMPRESSE

Le compresse di difenidramina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di difenidramina contengono *Difenidramina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di difenidramina cloridrato ($C_{17}H_{22}ClNO$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere corrispondente a 0,2 g di difenidramina cloridrato aggiungere *acqua R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente. Filtrare, prelevare 0,05 ml del filtrato ed aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si sviluppa una colorazione gialla intensa che vira al rosso per aggiunta di 0,5 ml di *acido nitrico R*. Aggiungere 15 ml di *acqua R*, raffreddare, aggiungere 5 ml di *cloroformio R* ed agitare. Si sviluppa una colorazione viola intensa nello strato cloroformico.
- B. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare con porzioni successive di *cloroformio R* una quantità di polvere pari a circa 0,250 g di difenidramina cloridrato. Riunire gli estratti cloroformici e filtrare. Evaporare a secco il filtrato.

Il residuo fonde (2.2.14) da 168 °C a 172 °C.

Disciogliere 50 mg di residuo in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. La soluzione, esaminata tra 230 nm e 350 nm, mostra tre massimi di assorbimento (2.2.25) a 253 nm, a 258 nm e a 264 nm. Le assorbanze specifiche ai massimi sono, rispettivamente, circa 12, 15 e 12.

SAGGI

Sostanze correlate. Eseguire una cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare con 3 porzioni successive, ciascuna da 10 ml di *cloroformio R*, una quantità di polvere corrispondente al peso medio di 2 compresse. Riunire e filtrare gli estratti cloroformici ed evaporare a secco. Sciogliere il residuo in 5 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire, per un percorso di 15 cm circa, usando una miscela di 80 volumi di *cloroformio R*, 20 volumi di *metanolo R* e 1 volume di *dietilammina R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria per qualche minuto, spruzzare con una soluzione al 20 per cento V/V di *acido solforico R* in *alcool R* e scaldare a 120 °C per circa 10 min fino a comparsa delle macchie. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie oltre alla principale, nessuna di esse deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Agitare con 100,0 ml di *acqua R* una quantità di polvere esattamente pesata e corrispondente a circa 400 mg di difenidramina; filtrare. A 75,0 ml del filtrato aggiungere 5 g di *sodio cloruro R* e 5 ml di *sodio idrossido 5 M*. Estrarre le soluzioni con porzioni successive, da 20 ml ciascuna, di *etere R* fino ad estrazione completa. Riunire e lavare gli estratti eteri con 2 porzioni successive, da 5 ml ciascuna, di *acqua R* che, riunite, vengono poi estratte con 2 successive porzioni da 10 ml ciascuna di *etere R*. Riunire gli estratti eteri ed i lavaggi eteri ed evaporare fino a circa 10 ml. Aggiungere 20 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, scaldare leggermente per allontanare l'etere residuo quindi raffreddare e titolare l'eccesso di acido con *sodio idrossido 0,1 M*, usando come indicatore *rosso di metile R*.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 29,18 mg di $C_{17}H_{22}ClNO$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 25 mg di difenidramina cloridrato.

DIFENIDRAMINA SCIROPPPO

Lo sciroppo di difenidramina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di difenidramina contiene *Difenidramina cloridrato* in un adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di difenidramina cloridrato ($C_{17}H_{22}ClNO$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido sciropposo limpido.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Acidificare con *acido cloridrico diluito R* una quantità di preparazione, corrispondente a circa 50 mg di difenidramina cloridrato, e agitare con 3 porzioni successive, ciascuna da 20 ml di *etere R*. Allontanare l'etere ed estrarre con 2 porzioni, ciascuna da 20 ml, di *cloroformio R*. Essiccare gli estratti cloroformici riuniti su *sodio solfato anidro R*; filtrare, evaporare il cloroformio e sciogliere il residuo in 5 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,1 g di *difenidramina cloridrato SCR* in *cloroformio R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 5 volumi di *alcool R*, 3 volumi di *acido acetico glaciale R* e 2 volumi di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con una soluzione contenente 2,5 g/l di *acido cloroplatinico R* e 50 g/l di *potassio ioduro R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensioni, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Evaporare a secco 1 ml della soluzione in esame preparata nella reazione di identificazione A. Disciogliere il residuo in alcune gocce di *acqua R* e aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si forma un

precipitato giallo che per aggiunta di 0,5 ml di *acido nitrico R* diventa rosso-ciliegia. Aggiungere 15 ml di *acqua R* e, dopo raffreddamento, 5 ml di *cloroformio R*; agitare. Nello strato cloroformico si sviluppa una intensa colorazione violetta.

- C. 5 g circa di preparazione diluiti a 10 ml con *acqua R* danno le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH è compreso tra 5,0 e 6,0.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Acidificare con *acido cloridrico diluito R* una quantità di preparazione, corrispondente a circa 50 mg di difenidramina cloridrato, e agitare con 3 porzioni successive, ciascuna da 20 ml di *etere R*. Allontanare l'etere ed estrarre con 2 porzioni, ciascuna da 20 ml, di *cloroformio R*. Essiccare gli estratti cloroformici riuniti su *sodio solfato anidro R*; filtrare, evaporare il cloroformio e sciogliere il residuo in 5 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Diluire 1,0 ml della soluzione in esame a 100 ml con *cloroformio R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 8 volumi di *cloroformio R*, 2 volumi di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione diluita R*. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Acidificare una quantità di preparazione, esattamente misurata e opportunamente diluita con *acqua R*, corrispondente a 0,1 g di difenidramina cloridrato, con *acido cloridrico diluito R*. Agitare con 3 porzioni, ciascuna da 20 ml, di *etere R*; allontanare l'etere, alcalinizzare con *sodio idrossido 5 M* ed estrarre la soluzione con porzioni successive ciascuna da 20 ml di *etere R* fino ad estrazione completa. Lavare gli estratti eteri riuniti con 2 porzioni successive da 5 ml di *acqua R*, estrarre i due lavaggi riuniti con 15,0 ml di *etere R*. Riunire i lavaggi eteri e gli estratti eteri, evaporare a secco e disciogliere il residuo in 15 ml di *acido solforico 0,05 M*. Titolare l'eccesso di acido con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore *rosso metile soluzione R*.

1 ml di *acido solforico 0,05 M* equivale a 29,18 mg di $C_{17}H_{22}ClNO$.

CONSERVAZIONE

In un recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene lo 0,250 per cento m/V di difenidramina cloridrato.

DIGITOSSINA COMPRESSE

Le compresse di digitossina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di digitossina contengono *Digitossina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di digitossina ($C_{41}H_{64}O_{13}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Sospendere una quantità di polvere, corrispondente a circa 0,5 mg di digitossina, in 0,2 ml di *alcol al 60 per cento V/V R*. Aggiungere 0,1 ml di *acido dinitrobenzoico soluzione R* e 0,1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Si sviluppa una colorazione viola.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 1 mg di digitossina, aggiungere 10 ml di *cloroformio R*. Agitare, centrifugare ed evaporare a pressione ridotta 5 ml del soprannatante, riprendere il residuo con 1 ml di una miscela di uguali volumi di *cloroformio R* e *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Soluzione di *digitossina SCR* (0,5 g/l) in una miscela di uguali volumi di *cloroformio R* e *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire immediatamente per un percorso di 15 cm usando una miscela di 15 volumi

di *metanolo R*, 40 volumi di *cicloesano R* e 90 volumi di *cloroformio R*. Seccare la lastra in una corrente di aria fredda per 5 min. Ripetere l'eluizione e seccare la lastra in una corrente d'aria fredda per 5 min. Spruzzare con una miscela di 1 volume di *acido solforico R* e 9 volumi di *alcool R* e scaldare a 130 °C per 15 min. Esaminare i cromatogrammi alla luce del giorno. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.6.9). Polverizzare finemente una compressa ed estrarre la polvere con una miscela di volumi uguali di *metanolo R* ed *acqua R*, agitare per 30 min circa e diluire a 25,0 ml con la stessa miscela di solventi. Filtrare attraverso una membrana con porosità non superiore a 0,8 µm, ed eliminare i primi millilitri di filtrato. Trasferire 1 ml del filtrato in un pallone tarato da 10,0 ml, aggiungere 3 ml di una soluzione (1 g/l) di *acido ascorbico R* in *metanolo R*, 0,2 ml di *idrogeno perossido R* soluzione 0,009 M. Portare a volume con *acido cloridrico R*. Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento usando 1 ml di una soluzione (0,004 g/l) di *digitossina SCR* in una miscela di volumi uguali di *metanolo R* ed *acqua R*. Dopo 30 min esatti dalla preparazione della soluzione, misurare (2.2.21) l'intensità della fluorescenza emessa a 570 nm circa, usando una radiazione di eccitazione di circa 400 nm ed effettuare la lettura rispetto al bianco costituito dai soli reattivi. Calcolare la quantità di digitossina dal rapporto dell'intensità della fluorescenza della soluzione in esame e quella della soluzione di riferimento. Ripetere l'operazione su altre 9 compresse.

Tempo di dissoluzione. In un pallone di vetro a tre colli da 1 litro, munito di imbuto di carico, agitatore e termometro, versare 500 ml di *acido cloridrico R* (6 g/l) in *acqua R*. Termostatare a 37 °C ± 0,5 °C. Introdurre una compressa e mantenere in agitazione alla velocità di 60 ± 2 giri al minuto.

Dopo 30 min prelevare ad un'altezza di 5 cm dal fondo del pallone circa 15 ml di liquido, filtrarlo attraverso una membrana con porosità non superiore a 0,8 µm ed eliminare i primi millilitri del filtrato. In due imbusti separatori estrarre separatamente 10,0 ml del filtrato successivo e della soluzione di riferimento, contenente in 10 ml di *acido cloridrico R* (6 g/l) in *acqua R* una quantità di *digitossina SCR* corrispondente a 1/50 della quantità di digitossina indicata in etichetta, con due porzioni successive da 10 ml ciascuna di una miscela di

1 volume di *alcool isopropilico R* e 6 volumi di *cloroformio R* e lasciare separare le fasi. Raccogliere separatamente le fasi organiche in beute da 25 ml con tappo a smeriglio ed evaporare in corrente d'*azoto R* effettuando un leggero riscaldamento ed avendo cura di allontanare le ultime porzioni del solvente senza riscaldare il residuo. Il residuo nelle beute può essere conservato in essiccatore al riparo dalla luce.

Ripetere l'operazione su altre 4 compresse. Aggiungere poi a ciascuna beuta, nell'ordine e agitando ogni volta, 1,0 ml di una soluzione (2 g/l) di *acido ascorbico R* in *metanolo R*, 3,0 ml di *acido cloridrico R*, 1,0 ml di *idrogeno perossido soluzione metanolica R*. Dopo 30 min esatti dalla preparazione della soluzione, misurare l'intensità della luce fluorescente emessa dalle due soluzioni a 570 nm circa, usando una radiazione di eccitazione di circa 400 nm e leggendo contro un bianco costituito dai soli reattivi. Calcolare la quantità di digitossina dal rapporto delle intensità della fluorescenza della soluzione in esame e di quella della soluzione di riferimento.

La quantità di digitossina disciolta dopo 30 min non deve essere, in tutte le compresse esaminate, inferiore al 65,0 per cento della quantità media di digitossina calcolata nella Determinazione quantitativa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Aggiungere ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 2 mg di digitossina, 10 ml di *cloroformio R*; agitare e centrifugare. Ripetere l'estrazione per altre 3 volte. Evaporare a secco in corrente di *azoto R* gli estratti cloroformici riuniti, riprendere il residuo con 50 ml di *acido acetico glaciale R* e agitare per 1 h. Filtrare, eliminando i primi millilitri del filtrato e introdurre 5,0 ml del filtrato successivo in un pallone tarato da 25 ml. Contemporaneamente nel primo di altri due palloni tarati introdurre 4,0 ml di una soluzione contenente *digitossina SCR* in una miscela di 25 ml di *acido acetico glaciale R* e 3,0 ml di *acqua R* e, nel secondo, 4,0 ml di una miscela di 25 ml di *acido acetico glaciale R* e 3,0 ml di *acqua R* come bianco. Ad ogni pallone tarato aggiungere 1,0 ml di *dimetilsolfossido R* e diluire a 25,0 ml con *xantidolo soluzione R 2*. Agitare e lasciare a riposo, al riparo dalla luce, per 4 h e mezzo. Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni al massimo di assorbimento a 550 nm, utilizzando il bianco appositamente preparato.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 0,10 mg di digitossina.

DIGITOSSINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Digitossina fiale

La preparazione iniettabile di digitossina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di digitossina è una soluzione sterile ed apirogena avente le seguenti composizioni:

Digitossina	100 mg	250 mg
Etanolo 96 per cento	300 g	300 g
Glicerolo	350 g	350 g
Acqua per preparazione iniettabili q.b a	1000 ml	1000 ml

Preparazione. Disciogliere la *Digitossina* nell'*Etanolo 96 per cento* riscaldando leggermente. Aggiungere il *Glicerolo*, portare a volume con *Acqua per preparazioni iniettabili* e filtrare. Ripartire in fiale da 1 ml e sterilizzare in autoclave.

Contenuto di digitossina ($C_{41}H_{64}O_{13}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Evaporare una quantità di soluzione corrispondente a 1,5 mg circa di digitossina; sciogliere il residuo, scaldando leggermente, in 1 ml di *acido acetico glaciale R*. Alla soluzione raffreddata aggiungere una goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1* e, con precauzione, 1 ml di *acido solforico R*, facendo stratificare: nella zona di contatto tra i due liquidi si forma un anello bruno scuro, che a riposo, diffonde lentamente una colorazione prima verde, poi blu nello strato superiore.

SAGGI

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 71,4 U.I. di endotossine per millilitro di una soluzione allo 0,01 per cento *m/V* di digitossina.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire con *alcool R* un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 2,0 mg di digitossina, portando al volume di 50,0 ml. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni, preparare una soluzione di riferimento contenente 4,0 mg di *digitossina SCR* in 100,0 ml di *alcool R*. A 5,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere, sotto agitazione, 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R* e lasciare a riposo per 30 min al riparo dalla luce. Misurare l'assorbimento (2.2.25) delle due soluzioni al massimo di assorbimento di 495 nm circa, utilizzando come bianco una miscela formata da 5,0 ml di *alcool R* e 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R* preparata contemporaneamente. Calcolare il contenuto di $C_{41}H_{64}O_{13}$ tenendo conto delle assorbanze misurate e della concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

DIGOSSINA COMPRESSE

Le compresse di digossina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse (0478)*.

DEFINIZIONE

Le compresse di digossina contengono *Digossina* in adeguati eccipienti.

Contenuto in digossina ($C_{41}H_{64}O_{14}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a circa 0,50 mg di digossina, aggiungere 1 ml di *acido acetico glaciale R* contenente (0,1 g/l) di *ferro(-ico) cloruro R*. Agitare, centrifugare e al soprannatante aggiungere, con precauzione, 1 ml di *acido solforico R* facendo stratificare: nella zona di contatto tra i due liquidi si forma un anello bruno scuro che, a riposo, diffonde lentamente una colorazione prima verde e poi blu, nello strato superiore.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). In un tubo da centrifuga con tappo a smeriglio polverizzare finemente ogni compressa e aggiungere 6 ml di *alcool R*. Agitare la sospensione per 2 h a 40 °C circa e poi centrifugare. Estrarre il residuo con due porzioni successive, ciascuna da 2 ml, di *alcool R*, agitando a 40 °C per 15-20 min. Centrifugare, riunire le soluzioni liquide soprannatanti alla soluzione alcoolica e diluire con *alcool R* in modo da ottenere una soluzione con una concentrazione presunta di 20-30 µg/ml di digossina. Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento contenente 2,5 mg di *digossina SCR* in 100 ml di *alcool R*. A 5,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere, agitando, 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R*. Lasciare le soluzioni a riposo per 30 min al riparo dalla luce e misurare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni al massimo a 495 nm usando come riferimento una miscela di 50 ml di *alcool R* e 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R* preparata contemporaneamente.

Dissoluzione. Effettuare il saggio di dissoluzione delle forme farmaceutiche solide (2.9.3), utilizzando come apparecchio l'agitatore a paletta. Il liquido di dissoluzione è costituito da 500 ml di *acido cloridrico R* (6 g/l) in *acqua R*. Regolare la temperatura a $37 \pm 0,5$ °C. Introdurre una compressa ed agitare alla velocità di 60 ± 2 giri al minuto. Dopo 30 min prelevare, ad un'altezza di 5 cm dal fondo, circa 15 ml di liquido e filtrare attraverso una membrana di porosità non superiore a 0,8 µ, eliminando i primi millilitri del filtrato. Preparare una soluzione di riferimento contenente una quantità di *digossina SCR* pari a 1:50 della quantità di digossina indicata in etichetta, in 10 ml di *acido cloridrico R* (6 g/l) in *acqua R*. Estrarre separatamente, in 2 imbuti separatori, 10 ml del filtrato successivo e 10 ml della soluzione di riferimento, con due porzioni successive da 10 ml di una miscela di 1 volume di *alcool isopropilico R* e 6 volumi di *cloroformio R* e lasciare separare le fasi. Raccogliere separatamente le fasi organiche in beute da 25 ml munite di tappo a smeriglio, evaporare in corrente d'azoto effettuando un leggero riscaldamento avendo cura di eliminare le ultime porzioni di solvente senza riscaldare il residuo. Conservare il residuo nelle beute in essiccatore al riparo dalla luce. Ripetere l'operazione su altre 4 compresse. Aggiungere poi a ciascuna beuta, nell'ordine e agitando ogni volta, 1,0 ml di una soluzione (2 g/l) di *acido ascorbico R* in *metanolo R*, 3,0 ml di *acido cloridrico R*, 1,0 ml di *idrogeno perossido soluzione metanolica R* e lasciare a riposo per 2 h al riparo dalla luce. Determinare l'intensità della fluorescenza (2.2.21) delle soluzioni in esame e della soluzione di riferimento a 485 nm, usando una radiazione di eccitazione di circa 370 nm e un bianco costituito dai soli reattivi. Calcolare la quantità di

digossina disciolta dal rapporto tra l'intensità della soluzione in esame e quella della soluzione di riferimento. La quantità di digossina disciolta dopo 30 min non deve essere inferiore, in tutte le compresse, al 70 per cento della quantità media di digossina calcolata nella Determinazione quantitativa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 2,0 mg di digossina, aggiungere 10 ml di *cloroformio R*, agitare per 1 min e centrifugare. Ripetere l'estrazione per altre 3 volte. Evaporare i liquidi riuniti in corrente di *azoto R* riscaldando leggermente. Disciogliere il residuo in *alcool R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento disciogliendo 4,0 mg di *digossina SCR* in 100,0 ml di *alcool R*. Separatamente aggiungere a 5,0 ml di ciascuna soluzione, agitando, 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R* e lasciare a riposo per 30 min al riparo dalla luce. Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni al massimo a 495 nm usando come bianco una miscela di 5,0 ml di *alcool R* e 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R* preparata contemporaneamente. Calcolare il contenuto di $C_{41}H_{64}O_{14}$ dalle assorbanze misurate e dalla concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 0,125 mg o 0,250 mg di digossina.

DIGOSSINA PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di digossina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di digossina è una soluzione sterile ed apirogena avente le seguenti composizioni:

<i>Digossina</i>	10,0 mg	25,0 mg
<i>Etanolo</i> (80 per cento V/V)	12,5 ml	12,5 ml
<i>Glicole propilenico</i>	40,0 ml	40,0 ml
<i>Acido citrico monoidrato</i>	0,075 g	0,075 g
<i>Sodio fosfato dibasico dodecaidrato</i>	0,45 g	0,45 g
<i>Acqua per preparazioni iniettabili</i> q.b. a	100 ml	100 ml

Preparazione: disciogliere la *Digossina* in *Etanolo* (80 per cento *V/V*), aggiungere il *Glicole propilenico*, la soluzione dell'*Acido citrico monoidrato* e del *Sodio fosfato dibasico dodecaidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*, portare a volume e filtrare. Ripartire in fiale da 1 ml e sterilizzare in autoclave.

Contenuto di digossina ($C_{41}H_{64}O_{14}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

Evaporare una quantità di preparazione, corrispondente a circa 1,5 mg di digossina. Disciogliere il residuo, riscaldando lentamente, in 1 ml di *acido acetico glaciale R*. Raffreddare, aggiungere 1 goccia di *ferro (-ico) cloruro soluzione R1* e, con precauzione, 1 ml di *acido solforico R* facendo stratificare: nella zona di contatto tra i due liquidi si forma un anello bruno scuro che, a riposo, diffonde lentamente una colorazione prima verde poi blu, nello strato superiore.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,7 e 7,3.

Endotossine batteriche (2.6.14). a) Non più di 25 U.I. di endotossine per millilitro della soluzione allo 0,01 per cento (0,1 mg/ml) *m/V* di digossina; b) non più di 62,5 U.I. di endotossine per millilitro della soluzione allo 0,025 per cento (0,25 mg/ml) *m/V* di digossina.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a circa 2,0 mg di digossina, a 50,0 ml con *alcool R*. Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento disciogliendo 4,0 mg di *digossina SCR* in 100,0 ml di *alcool R*. Separatamente aggiungere a 5,0 ml di ciascuna soluzione, agitando, 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R* e lasciare a riposo per 30 min al riparo dalla luce. Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni al massimo a 495 nm usando come riferimento una miscela di 5,0 ml di *alcool R* e 3,0 ml di *sodio picrato soluzione alcalina R* preparata contemporaneamente. Calcolare il contenuto di $C_{41}H_{64}O_{14}$ dalle assorbanze misurate e dalla concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

DIMENIDRINATO COMPRESSE

Le compresse di dimenidrinato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse (0478)*.

DEFINIZIONE

Le compresse di dimenidrinato contengono *Dimenidrinato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di dimenidrinato ($C_{24}H_{28}ClN_5O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 150 mg di dimenidrinato, con 15 ml di *alcool al 50 per cento V/V R* e filtrare. Al filtrato aggiungere 6 ml di *acqua R* e 1 ml di *acido cloridrico R*, raffreddare in acqua ghiacciata per 30 min, strofinare, se necessario, le pareti della provetta con una bacchetta di vetro per favorire la cristallizzazione. Il precipitato ottenuto soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Disciogliere 10 mg circa del precipitato in 1 ml di *acido cloridrico R*, aggiungere 0,1 g di *potassio clorato R* ed evaporare a secco in una capsula di porcellana. Il residuo è rossastro e diventa rosso-porpora per esposizione a vapori di ammoniacca.
- Fondere 50 mg di precipitato in un crogiolo di porcellana con 0,5 g circa di *sodio carbonato anidro R*, bollire con 5 ml di *acqua R*, acidificare al *tornasole cartina azzurra R* con *acido nitrico R* e filtrare. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a 0,400 g di dimenidrinato, con tre porzioni successive, ciascuna da 15 ml di *cloroformio R* e filtrare. Riunire gli estratti eteri, far evaporare e disciogliere il residuo ottenuto in 10 ml di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento. Diluire 5 ml della soluzione in esame a 10 ml con *diclorometano R*.

Dimeticone crema

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm con una miscela di 1 volume di *ammoniaca R*, 9 volumi di *metanolo R* e 90 volumi di *diclorometano R*. Asciugare la lastra in corrente di aria fredda, spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione diluita R*, asciugare all'aria e spruzzare la lastra con *idrogeno perossido soluzione diluita R*. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento. Non si deve tener conto di una macchia situata tra il punto di partenza e un R_f di 0,1 circa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Agitare a lungo una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 0,100 g di dimenidrinato, con 20 ml di *acqua R*, aggiungere 10 ml di *ammoniaca diluita R1*, mescolare ed estrarre con 5 porzioni successive, le prime tre da 15 ml e le ultime due da 10 ml di *etere R*. Riunire gli estratti eterei, lavare con *acqua R*, evaporare a secco e scaldare il residuo con 10 ml di *alcol R* fino a dissoluzione completa. Raffreddare, aggiungere 50 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e titolare l'eccesso di acido con *sodio idrossido 0,01 M* usando come indicatore *rosso metile indicatore misto R*. 1 ml di *acido cloridrico 0,01 M* equivale a 4,70 mg di $C_{24}H_{28}ClN_5O_3$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 50 mg di dimenidrinato.

DIMETICONE CAPSULE

Le capsule di dimeticone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di dimeticone hanno la seguente composizione:

<i>Dimeticone (350)</i>	40 mg
<i>Silice colloidale anidra</i>	5 mg
<i>Magnesio ossido leggero q.b.</i>	

Preparazione: stemperare il *Dimeticone (350)* nella *Silice colloidale anidra*; alla massa pastosa aggiungere, in por-

zioni successive, il *Magnesio ossido leggero* setacciato (setaccio numero 300), mescolando fino ad ottenere una polvere omogenea. Trasferire la miscela così ottenuta in un mortaio, a superficie ruvida, preventivamente spolverato con *Magnesio ossido leggero*. Mescolare esercitando una leggera pressione col pestello ed aggiungere ancora *Magnesio ossido leggero* fino a raggiungere la quantità di miscela necessaria per riempire tutti gli opercoli.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere bianca di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

- Ad una quantità di polvere corrispondente a 80 mg circa di dimeticone, aggiungere 10 ml di *etere R*. Lasciare decantare, trasferire il soprannatante in un tubo da saggio e portare a secco. Scaldare cautamente il residuo su piccola fiamma fino a comparsa di fumi bianchi. Capovolgere il tubo in un secondo tubo da saggio contenente 1 ml di una soluzione (1 g/l) di *acido cromotropico sale sodico R* in *acido solforico R*, in modo che i fumi raggiungano la soluzione. Agitare il tubo contenente la soluzione per circa 10 s e poi scaldare a b.m. per 5 min. Si sviluppa una colorazione viola.
- Disciogliere una quantità di polvere corrispondente al contenuto di una capsula in 2 ml di *acido nitrico diluito R*. La soluzione ottenuta, neutralizzata con *sodio idrossido soluzione diluita R*, dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.I).

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

Le capsule contengono anche 80 mg di Dimeticone (350) e 10 mg di Silice colloidale anidra.

DIMETICONE CREMA

La crema al dimeticone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

100 g di crema hanno la seguente composizione:

<i>Dimeticone (350)</i>	10 g
<i>Anfifila crema base</i>	90 g

Preparazione: aggiungere il *Dimeticone* (350) alla crema base e mescolare fino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Crema bianca, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

- A. Incenerire in un crogiolo di platino, in presenza di acido solforico, 0,5 g circa di crema (2.4.14). Le ceneri così ottenute danno la reazione caratteristica dei silicati (2.3.1).
- B. A 3 g circa di preparazione, posti in un tubo da saggio, aggiungere 5 ml di *2-propanolo R* e scaldare cautamente fino ad ottenere un volume di 3 ml circa; aggiungere 2-3 gocce di *acido cromotropico sale sodico soluzione R*, preparata di recente. Si sviluppa una colorazione nera.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

DOPAMINA CONCENTRATO STERILE

Dopamina fiale da diluire

Il concentrato sterile di dopamina soddisfa anche ai requisiti per concentrati per soluzioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato sterile di dopamina è una soluzione sterile ed apirogena avente le seguenti composizioni:

<i>Dopamina cloridrato</i>	10 mg	50 mg
<i>Sodio cloruro</i>	18 mg	10 mg
<i>Acqua per preparazioni iniettabili</i> q. b. a	2 ml	10 ml

Contiene un antiossidante.

Contenuto di dopamina cloridrato ($C_8H_{12}ClNO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, praticamente incolore.

IDENTIFICAZIONE

Estrarre un volume di preparazione contenente 0,1 g di dopamina cloridrato con 10 ml di *butanolo R*. Essiccare l'estratto su *sodio solfato anidro R* ed evaporare a secco. Esaminare il residuo mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *dopamina cloridrato SCR*. Esaminare le sostanze come dispersione in pastiglie di *potassio cloruro R*.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,5 e 5,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 83,35 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione contenente 5 mg di dopamina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 5 mg circa di dopamina, a 100,0 ml con *acido solforico 0,05 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 279 nm usando come riferimento lo stesso solvente. Calcolare il contenuto di $C_8H_{12}ClNO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 133.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare per infusione endovenosa solo dopo opportuna diluizione con soluzione glucosata, o altro idoneo liquido perfusionale;
- la soluzione non deve essere usata se non è incolore;
- la soluzione è incompatibile con soluzioni alcaline, sali di ferro e agenti ossidanti.

DOXICICLINA CAPSULE

Le capsule di doxiciclina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di doxiciclina contengono *Doxiciclina iclato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di doxiciclina (C₂₂H₂₄N₂O₈): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide, contenenti una polvere gialla, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento. Portare una soluzione (100 g/l) di *sodio edetato R* a pH 9,0 con *sodio idrossido soluzione concentrata R* e spruzzare uniformemente la soluzione sulla lastra (circa 10 ml per una lastra 100 mm × 200 mm). Lasciar seccare la lastra in posizione orizzontale per almeno 1 h. Al momento dell'uso, seccare la lastra in stufa a 110 °C per 1 h.

Soluzione in esame. In un tubo da centrifuga pesare una quantità di polvere corrispondente a 5 mg di doxiciclina iclato. Aggiungere 10 ml di *metanolo R*, agitare bene e centrifugare. Utilizzare la soluzione surnatante.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 5 mg di *doxiciclina iclato SCR* in *metanolo R*, e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 5 mg di *doxiciclina iclato SCR* e 5 mg di *tetraciclina cloridrato SCR* in *metanolo R*, e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 6 volumi di *acqua R*, 35 volumi di *metanolo R* e 59 volumi di *diclorometano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in

esame è simile per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie nettamente separate.

B. Ad una quantità di polvere corrispondente a 100 mg di doxiciclina aggiungere 20 ml di *alcool R* caldo, agitare, lasciare a riposo per 20 min. Filtrare ed evaporare il filtrato a secco a b.m. Il residuo dà la reazione caratteristica (a) dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

Impurezze che assorbono luce. Riunire il contenuto di alcune capsule e mescolare accuratamente. Preparare, per diluizioni successive ed eventuali filtrazioni, una soluzione contenente la quantità corrispondente a 1 g di doxiciclina in 100 ml di una miscela costituita da 1 volume di *acido cloridrico 1 M* e 99 volumi di *metanolo R*. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta misurata a 490 nm, non deve essere superiore a 0,07.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Riunire il contenuto di alcune capsule ed essiccare in stufa a 100-105 °C per 2 h. Non più dell'8,5 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare il contenuto di 20 capsule. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 200 mg circa di doxiciclina, aggiungere 200 ml di *acido cloridrico 0,01 M*. Effettuare la titolazione microbiologica degli antibiotici (2.7.2) secondo le seguenti indicazioni:

Dosaggio per diffusione

Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)
Doxiciclina iclato	Acqua	4,5 (0,1 M)

Microrganismo	Terreno di coltura e pH finale (0,1 unità di pH)	Temperatura di incubazione
<i>Bacillus cereus</i> NCTC 10320 CIP 64.52 ATCC 11778	A-pH 6,6	30-37 °C

Dosaggio turbidimetrico

Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)
Doxiciclina iclato	Acqua	4,5 (0,1 M)

Microrganismo	Terreno di coltura e pH finale (0,1 unità di pH)	Temperatura di incubazione
<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	C-pH 7,0	35-37 °C

residuo con 30 ml di *etanolo R* caldo per 20 min, filtrare ed evaporare il filtrato a b.m. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione.

- A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *efedrina cloridrato SCR*.
- B. Aggiungere, a 10 mg di residuo, 1 ml di *acqua R*, 0,2 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R* e 1 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Si sviluppa una colorazione violetta. Aggiungere 2 ml di *etere R* ed agitare. La fase eterea è porpora e la fase acquosa è blu.
- C. Aggiungere 2 ml di *acqua R* a 200 mg di residuo. La soluzione dà la reazione caratteristica (a) dei cloruri (2.3.1).

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di doxiciclina iclato in termini di doxiciclina anidra.

Le capsule contengono 100 mg di doxiciclina anidra.

EFEDRINA COMPRESSE

Le compresse di efedrina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di efedrina contengono *Efedrina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto in efedrina cloridrato (C₁₀H₁₆ClNO): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a circa 0,4 g di efedrina cloridrato, aggiungere 10 ml di *cloroformio R* e agitare. Allontanare il solvente e ripetere l'operazione una seconda volta. Agitare il

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 400 mg di efedrina cloridrato, aggiungere 100 ml di *acido acetico glaciale R*, agitare riscaldando. Raffreddare e aggiungere 10 ml di *mercurio(-ico) acetato soluzione R*. Titolare con *acido perchlorico 0,1 M* usando come indicatore *crystal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perchlorico 0,1 M* equivale a 20,17 mg di C₁₀H₁₆ClNO.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 25 mg di efedrina cloridrato.

**EFEDRINA
PREPARAZIONE INIETTABILE**

Efedrina cloridrato fiale

La preparazione iniettabile di efedrina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di efedrina è una soluzione sterile contenente *Efedrina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di efedrina cloridrato (C₁₀H₁₆ClNO): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Efedrina preparazione iniettabile

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando lastre di *gel di silice R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Prelevare un volume di soluzione corrispondente a circa 20 mg di efedrina cloridrato e portare a secco. Solubilizzare il residuo in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *efedrina cloridrato SCR* in *metanolo R* e diluire a 5 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl della soluzione in esame e 10 µl della soluzione di riferimento. Eluire per un percorso pari a 2/3 della lunghezza della lastra utilizzando una miscela di 5 volumi di *diclorometano R*, 15 volumi di *ammoniaca concentrata R* e 80 volumi di *2-propanolo R*. Asciugare la lastra all'aria, spruzzare con *ninidrina soluzione R*. Scaldare a 110 °C per 5 min.

La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

- B. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 15 mg circa di efedrina cloridrato, aggiungere 0,1 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R* e 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*; si sviluppa una colorazione violetta. Agitare con 1 ml di *etere R*: lo strato etereo si colora in rosso porpora, mentre lo strato acquoso si colora in azzurro.
- C. Dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 7,0.

Sostanze correlate Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Prelevare un volume di soluzione pari a 75,0 mg di efedrina cloridrato e diluire a 10 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 2 ml della soluzione in esame a 100 ml con la fase mobile. Diluire 1 ml di questa soluzione a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 5,0 mg di *efedrina cloridrato SCR* nella fase mobile e diluire a 50 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna lunga 0,15 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice fenilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una soluzione preparata nel modo seguente: miscelare 6 volumi di *metanolo R* e 94 volumi di una soluzione 11,6 g/l di *ammonio acetato R*. Portare a pH 4,0 con *acido acetico glaciale R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 257 nm,
- volume di iniezione: 20 µl,
- tempo di durata dell'analisi: almeno 2,5 volte il tempo di ritenzione dell'efedrina,
- tempo di ritenzione relativo rispetto alla efedrina (circa 8 min): impurezza B (*pseudoefedrina*) circa 1,1; impurezza A((-)-(1R)-1-idrossi-1-fenilpropan-2-one) = circa 1,4.

Il saggio è valido solo se la risoluzione tra il picco dell'efedrina e quello dell'impurezza B è almeno 2,0.

Limiti:

- *fattore di correzione:* per il calcolo del contenuto, moltiplicare l'area del picco della impurezza A per 0,4,
- *impurezza A:* non maggiore dell'area del picco principale ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,2 per cento),
- *ogni altra impurezza:* per ogni impurezza, non più di 0,5 volte l'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,1 per cento),
- *somma delle impurezze oltre alla A:* non più di 2,5 volte l'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,5 per cento),
- *limite di esclusione:* 0,25 volte l'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,05 per cento).

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 58,3 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione all'1 per cento *m/V* di efedrina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Prelevare un volume esattamente misurato di soluzione corrispondente a circa 400 mg di efedrina cloridrato e portare a secco. Solubilizzare il residuo in 50 ml circa

di *acido acetico glaciale R* e titolare con *acido perclorico 0,1M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 20,17 mg di $C_{10}H_{16}ClNO$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione iniettabile può contenere 10 mg/ml o 25 mg/ml di *efedrina cloridrato*.

ELETTROLITICA BILANCIATA DI MANTENIMENTO CON GLUCOSIO I INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica bilanciata di mantenimento I con glucosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica bilanciata di mantenimento I con glucosio è una soluzione sterile ed apirogena, ipertonica con il sangue, contenente lo 0,234 per cento *m/V* di *Sodio cloruro*, lo 0,098 per cento *m/V* di *Potassio acetato*, lo 0,0316 per cento *m/V* di *Magnesio acetato* e il 5,5 per cento *m/V* di *Glucosio monoidrato* (oppure il 5,0 per cento *m/V* di *Glucosio anidro*) in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Mg^{2+} ; Cl^- ; CH_3COO^-) e di glucosio ($C_6H_{12}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con lo stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μ l di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dichloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

- B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- C. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- D. La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- E. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- F. La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

Elettrolitica bilanciata di mantenimento con glucosio I infusione endovenosa

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro.

Prodotti di decomposizione. Diluire un volume di preparazione in esame, corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250 ml con *acqua R*; l'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. A 50,0 ml aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Acetati. Ad un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 5,9 mg (0,1 mmol) di ione acetato.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro (C₆H₁₂O₆), utilizzando la tabella seguente:

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione ipertonica endovenosa da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA BILANCIATA DI MANTENIMENTO CON GLUCOSIO II INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica bilanciata di mantenimento II con glucosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica bilanciata di mantenimento II con glucosio è una soluzione sterile ed apirogena, ipertonica con il sangue, contenente lo 0,234 per cento *m/V* di Sodio cloruro, lo 0,128 per cento *m/V* di Potassio acetato, lo 0,0316 per cento *m/V* di Magnesio acetato e il 5,5 per cento *m/V* di Glucosio monoidrato (oppure il 5,0 per cento *m/V* di Glucosio anidro) in Acqua per preparazioni iniettabili.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Mg^{2+} ; Cl^- ; CH_3COO^-) e di glucosio ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando gel di silice *G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di acqua *R* e 3 volumi di metanolo *R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di glucosio *SCR* in una miscela di 2 volumi di acqua *R* e 3 volumi di metanolo *R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di fruttosio *SCR*, 10 mg di glucosio *SCR*, 10 mg di lattosio *SCR* e 10 mg di saccarosio *SCR* in una miscela di 2 volumi di acqua *R* e 3 volumi di metanolo *R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di acqua *R*, 15 volumi di meta-

nolo *R*, 25 volumi di acido acetico anidro *R* e 50 volumi di dicloroetano *R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di timolo *R* in una miscela di 5 ml di acido solforico *R* e 95 ml di alcool *R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

- B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- C. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- D. La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- E. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- F. La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,45 U.I. di endotossine per millilitro.

Prodotti di decomposizione. Diluire un volume di preparazione in esame, corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250 ml con acqua *R*; l'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con acqua *R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la soluzione standard di sodio (*Na* 200 ppm) *R*.

Elettrolitica di mantenimento con glucosio infusione endovenosa

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. A 50,0 ml aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Acetati. Ad un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 5,9 mg (0,1 mmol) di acetato.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro ($C_6H_{12}O_6$), utilizzando la tabella seguente:

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione ipertonica endovenosa da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA DI MANTENIMENTO CON GLUCOSIO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica di mantenimento con glucosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica di mantenimento con glucosio è una soluzione sterile ed apirogena, ipertonica con il sangue, contenente lo 0,091 per cento *m/V* di *Sodio cloruro*, lo 0,15 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,13 per cento *m/V* di *Potassio fosfato dibasico*, lo 0,279 per cento *m/V* di *Sodio Acetato* e il 5,0 per cento *m/V* di *Glucosio anidro* (oppure il 5,5 per cento *m/V* di *Glucosio monoidrato*) in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ , K^+ , Cl^- , HPO_4^{2-} , CH_3COO^-) e di glucosio ($C_6H_{12}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dicloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colorazione e dimensioni, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).

C. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).

D. La soluzione dà la reazione caratteristica dei fosfati (2.3.1).

E. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

F. Gli acetati vengono identificati in base al tempo di ritenzione del picco ottenuto come descritto nella Determinazione quantitativa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 6,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 1,23 U.I. di endotossine per millilitro.

Prodotti di decomposizione. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250,0 ml con *acqua R*; l'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml di soluzione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Acetati. Determinare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. La soluzione viene analizzata tal quale.

Elettrolitica di mantenimento con glucosio infusione endovenosa

Soluzioni di riferimento. Diluire 3,12 g di *acido acetico glaciale R* in 1000 ml di *acqua R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna ad esclusione ionica per acidi organici lunga 30 cm e con diametro interno di 7,5 mm impaccata con una resina di stirene-divinilbenzene solfonata,
- una precolonna ad esclusione ionica impaccata con la stessa fase stazionaria,
- *acido solforico 0,01 M*, preventivamente degassato mediante ebollizione sotto vuoto, come fase mobile ad un flusso di 0,8 ml per minuto,
- un rivelatore UV a 215 nm,
- un registratore o un idoneo integratore elettronico.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C.

Iniettare separatamente 10 µl di ciascuna soluzione. Determinare il contenuto di acetato nella soluzione in esame dall'area dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e la soluzione di riferimento.

Potassio fosfato dibasico. Diluire 5,0 ml della soluzione in esame a 10,0 ml con *acqua R* (soluzione a). Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento disciogliendo 0,440 g di *potassio fosfato dibasico R* in *acqua R*, portando a volume di 1000,0 ml e diluendo 25,0 ml di tale soluzione a 100,0 ml con *acqua R*, (soluzione b) in modo da ottenere una soluzione di concentrazione (C) esattamente conosciuta molto vicina a 0,11 mg/ml di potassio fosfato dibasico (K₂HPO₄). In tre palloni tarati da 25,0 ml introdurre, rispettivamente, 5,0 ml di soluzione a, 5,0 ml di soluzione b di riferimento e 5,0 ml di *acqua R* (prova in bianco). A ciascuna soluzione aggiungere 10 ml di una soluzione (28 g/l) di *acido solforico R* e mescolare. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (25 g/l) di *ammonio molibdato R* e mescolare. Aggiungere 1,0 ml di *acido aminoidrossinaftalensolfonico soluzione R* e diluire a 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare e lasciare a riposo a 20-25 °C per 10 min. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle miscele ottenute, a partire dalla soluzione a, e dalla soluzione di riferimento b, a 660 nm, in confronto con la prova in bianco, osservando attentamente lo stesso intervallo di tempo tra la miscelazione delle soluzioni e la misura delle assorbanze. Calcolare il contenuto in mg/ml di potassio fosfato dibasico (K₂HPO₄) nella soluzione in esame mediante la formula $25,27 \times C \times (A_1/A_2)$, dove A₁ e A₂ sono le assorbanze ottenute, rispettivamente, con la soluzione a e con la soluzione b di riferimento.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento m/m di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro (C₆H₁₂O₆), utilizzando la tabella seguente:

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione ipertonica endovenosa da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA EQUILIBRATA ENTERICA INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata enterica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni parenterali (0520)*.

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata enterica è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,50 per cento *m/V* di *Sodio cloruro*, lo 0,075 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,035 per cento *m/V* di *Calcio cloruro*, lo 0,031 per cento *m/V* di *Magnesio cloruro*, lo 0,64 per cento *m/V* di *Sodio acetato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Cl^- ; CH_3COO^-): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. A 20,0 ml aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Acetati. A un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 5,9 mg (0,1 mmol) di acetato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione endovenosa da usarsi solo a funzionalità renale integra e ad una velocità di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA EQUILIBRATA GASTRICA INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata gastrica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata gastrica è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,37 per cento *m/V* di Sodio cloruro, lo 0,13 per cento *m/V* di Potassio cloruro, lo 0,37 per cento *m/V* di Ammonio cloruro in Acqua per preparazioni iniettabili.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; NH_4^+ e Cl^-): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica dell'ammonio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,56 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ammonio. A 50 ml di soluzione, esattamente misurati, aggiungere 2,5 ml di formaldeide R, previamente neutralizzati in presenza di fenoltaleina soluzione R. Dopo 1 o 2 min titolare lentamente con sodio idrossido 0,5 M in presenza dello stesso indicatore.

1 ml di sodio idrossido 0,5 M equivale a 26,75 mg di NH_4Cl .

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (Metodo II, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con acqua R.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (Metodo I, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con acqua R.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml di soluzione a 50,0 ml con acqua R. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di potassio cromato R e titolare con argento nitrato 0,1 M.

1 ml di argento nitrato 0,1 M equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione endovenosa da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA EQUILIBRATA GASTRICA CON GLUCOSIO AL 10 PER CENTO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata gastrica con glucosio al 10 per cento soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata gastrica con glucosio al 10 per cento è una soluzione sterile ed apirogena, ipertonica con il sangue, contenente lo 0,37 per cento *m/V* di Sodio cloruro, lo 0,13 per cento *m/V* di Potassio cloruro, lo 0,37 per cento *m/V* di Ammonio cloruro ed il 10,0 per cento *m/V* di Glucosio anidro (oppure l'11,0 per cento *m/V* di Glucosio monidrato) in Acqua per preparazioni iniettabili.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; NH_4^+ e Cl^-) e di glucosio ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida e di colore leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dicloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

B. La soluzione dà la reazione caratteristica dell'ammonio (2.3.1).

C. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).

D. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).

E. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,5 e 5,0.

Prodotti di decomposizione. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250 ml con *acqua R*. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non deve essere superiore a 0,25.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,59 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ammonio. A 50 ml di soluzione, esattamente misurati, aggiungere 2,5 ml di *formaldeide R*, previamente neutralizzati in presenza di *fenolfaleina soluzione R*. Dopo 1 o 2 min titolare lentamente con *sodio idrossido 0,5 M* in presenza dello stesso indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 0,5 M* equivale a 26,75 mg di NH_4Cl .

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml di soluzione a 50,0 ml con *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere alcuni pezzetti di materiale poroso, collegare ad un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro

Elettrolitica equilibrata pediatrica infusione endovenosa

2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole porzioni, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro (C₆H₁₂O₆) utilizzando la tabella seguente:

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione endovenosa ipertonica da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA EQUILIBRATA PEDIATRICA INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata pediatrica soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica equilibrata pediatrica è una soluzione sterile ed apirogena, ipertonica con il sangue, contenente lo 0,32 per cento *m/V* di *Sodio acetato*, lo 0,13 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,031 per cento *m/V* di *Magnesio cloruro*, lo 0,026 per

cento *m/V* di *Potassio fosfato dibasico* ed il 5,5 per cento *m/V* di *Glucosio monoidrato* (oppure il 5,0 per cento *m/V* di *Glucosio anidro*) in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na⁺; K⁺; Mg⁺²; Cl⁻; CH₃COO⁻; HPO₄²⁻) e di glucosio (C₆H₁₂O₆): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dicloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

- B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- C. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- D. La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- E. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- F. La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).
- G. La soluzione dà la reazione caratteristica dei fosfati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Prodotti di decomposizione. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250 ml con *acqua R*. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,70 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml di soluzione a 50,0 ml con *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Potassio fosfato dibasico. Diluire 5,0 ml della soluzione in esame a 10,0 ml con *acqua R* (soluzione a).

Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento disciogliendo 0,440 g di *potassio fosfato dibasico R* in *acqua R*, portando al volume di 1000,0 ml. Diluire 25,0 ml di tale soluzione a 100,0 ml con *acqua R* (soluzione b), in modo da ottenere una soluzione di concentrazione esattamente conosciuta (C) molto vicina a 0,11 mg di *potassio fosfato dibasico R* (K_2HPO_4) per millilitro. In tre palloni tarati da 25,0 ml, introdurre, rispettivamente 5,0 ml della soluzione a, 5,0 ml della soluzione b di riferimento e 5,0 ml di *acqua R* (prova in bianco). Aggiungere a ciascuna soluzione 10 ml di una soluzione (28 g/l) di *acido solforico R* e mescolare. Aggiungere quindi 2,0 ml di una soluzione (25 g/l) di *ammonio molibdato R* e mescolare. Aggiungere 1,0 ml di *acido aminoidrossinaftalensolfonico soluzione R* e portare al volume di 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare e lasciare a riposo a 20-25 °C per 10 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25) a 660 nm della miscela ottenuta a partire dalla soluzione a e di quella ottenuta a partire dalla soluzione b di riferimento in confronto con la prova in bianco osservando rigorosamente lo stesso intervallo di tempo tra la miscelazione delle soluzioni e la misura delle assorbanze. Il contenuto in potassio fosfato dibasico (K_2HPO_4) espresso in milligrammi/millilitro, della soluzione in esame si calcola mediante la formula $25,27 \times C \times (A/B)$ dove A e B sono le assorbanze ottenute con la soluzione a e con la soluzione b di riferimento.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere alcuni pezzetti di materiale poroso, collegare ad un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole porzioni, 25 ml di una soluzione al 25 per cento m/m di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Elettrolitica reidratante I infusione endovenosa

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro ($C_6H_{12}O_6$) utilizzando la tabella seguente:

Volume di sodio tiosolfato 0,1 M (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione endovenosa ipertonica da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA REIDRATANTE I INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante I soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante I è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,40 per cento *m/V* di Sodio cloruro, lo 0,27 per cento *m/V* di Potassio cloruro, lo 0,466 per cento *m/V* di Acido lattico e lo 0,207 per cento *m/V* di Sodio idrossido in Acqua per preparazioni iniettabili.

Può essere preparata anche utilizzando Sodio lattato soluzione.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Cl^- ; $C_3H_5O_3^-$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.I).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.I).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.I).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei lattati (2.3.I).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 1,26 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml di campione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Lattato. A 30 ml della preparazione in esame aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Aggiungere successivamente 50 ml di *acetone nitrile R*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 11,206 mg (0,1 mmol) di sodio lattato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- somministrare solo a funzionalità renale integra e ad una velocità di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA REIDRATANTE III INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante III soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante III è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,5 per cento *m/V* di *Sodio cloruro*, lo 0,075 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,035 per cento *m/V* di *Calcio cloruro*, lo 0,031 per cento *m/V* di *Magnesio cloruro*, lo 0,64 per cento *m/V* di *Sodio acetato* e lo 0,075 per cento *m/V* di *Sodio citrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Cl^- ; CH_3COO^- ; $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei citrati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio* (*Na 200 ppm*) *R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio* (*K 100 ppm*) *R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio* (*Ca 400 ppm*) *R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio* (*Mg 100 ppm*) *R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml della soluzione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*. 1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Sodio citrato. Diluire circa 20,0 ml di soluzione, esattamente misurati, a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare una soluzione di riferimento di *sodio citrato R* in *acqua R* in modo da ottenere una soluzione contenente 0,15 mg/ml di sodio citrato. Introdurre 1,0 ml di ciascuna soluzione in una provetta e, in una terza provetta, introdurre 1,0 ml di *acqua R* (bianco). Aggiungere, a ciascuna delle tre provette, 1,3 ml di *piridina R* e mesco-

Elettrolitica reidratante III con glucosio infusione endovenosa

lare. Quindi aggiungere 5,7 ml di *anidride acetica R*, mescolare in agitatore e mettere le provette a b.m. a 31 °C ±0,5. Lasciare sviluppare la colorazione per 35 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione in esame e della soluzione di riferimento a 425 nm, in vaschetta di 2 cm contro il bianco, osservando strettamente lo stesso intervallo di tempo tra la miscelazione delle soluzioni e la determinazione dell'assorbanza. Determinare il contenuto di sodio citrato nella soluzione in esame, per confronto con l'assorbanza della soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- somministrare solo a funzionalità renale integra e ad una velocità di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA REIDRATANTE III CON GLUCOSIO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante III con glucosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante III con glucosio è una soluzione sterile ed apirogena, ipertonica con il sangue, contenente lo 0,5 per cento *m/V* di *Sodio cloruro*, lo 0,075 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,035 per cento *m/V* di *Calcio cloruro*, lo 0,031 per cento *m/V* di *Magnesio cloruro*, lo 0,64 per cento *m/V* di *Sodio acetato*, lo 0,075 per cento *m/V* di *Sodio citrato* e il 5,0 per cento *m/V* di *Glucosio anidro* (oppure il 5,5 per cento *m/V* di *Glucosio monoidrato*) in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Cl^- ; CH_3COO^- ; $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$) e di glucosio ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dicloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).

C. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).

D. La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).

E. La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).

F. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

G. La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

H. La soluzione dà la reazione caratteristica dei citrati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,98 U.I. di endotossine per millilitro.

Prodotti di decomposizione. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250,0 ml con *acqua R*. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml di soluzione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*. 1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Sodio citrato. Diluire circa 20,0 ml di soluzione, esattamente misurati, a 100,0 ml con *acqua R*. Preparare una soluzione di riferimento di *sodio citrato R* in *acqua R*

in modo da ottenere una soluzione contenente 0,15 mg/ml di sodio citrato. Introdurre 1,0 ml di ciascuna soluzione in una provetta e, in una terza provetta, introdurre 1,0 ml di *acqua R* (bianco). Aggiungere, a ciascuna delle tre provette, 1,3 ml di *piridina R* e mescolare. Quindi aggiungere 5-7 ml di *anidride acetica R*, mescolare in agitatore e mettere le provette a b.m. a 31 °C ± 0,5. Lasciare sviluppare la colorazione per 35 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione in esame e della soluzione di riferimento a 425 nm, in una vaschetta di 2 cm contro il bianco, osservando strettamente lo stesso intervallo di tempo tra la miscelazione delle soluzioni e la determinazione dell'assorbanza. Determinare il contenuto di sodio citrato nella soluzione in esame, tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di potassio ioduro R disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento m/m di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro (C₆H₁₂O₆), utilizzando la tabella seguente:

Volume di sodio tiosolfato 0,1 M (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

Preparazioni Farmaceutiche Specifiche

Elettrolitica reidratante con glucosio e calcio gluconato infusione endovenosa

- l'intervallo di pH,
- soluzione ipertonica endovenosa da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA REIDRATANTE CON GLUCOSIO E CALCIO GLUCONATO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante con glucosio e calcio gluconato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa elettrolitica reidratante con glucosio e calcio gluconato è una soluzione sterile ed apirogena, ipertonica con il sangue, contenente lo 0,338 per cento *m/V* di Sodio cloruro, lo 0,196 per cento *m/V* di Potassio acetato, lo 0,069 per cento *m/V* di Potassio fosfato dibasico, lo 0,098 per cento *m/V* di Magnesio solfato, lo 0,071 per cento *m/V* di Calcio gluconato per preparazioni iniettabili e il 5,5 per cento *m/V* di Glucosio monoidrato (oppure il 5,0 per cento *m/V* di Glucosio anidro) in Acqua per preparazioni iniettabili. Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Cl^- ; HPO_4^{2-} ; SO_4^{2-} ; CH_3COO^- ; $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{14}$) e di glucosio ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando gel di silice G R come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire 5,0 ml di soluzione a 100 ml con metanolo R.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 250 mg di glucosio SCR in 5 ml di acqua R e diluire a 100 ml con metanolo R.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di calcio gluconato SCR in 5 ml di acqua R e diluire a 100 ml con metanolo R.

Deporre separatamente sulla lastra 8 μl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 100 ml di butanolo R, 50 ml di acido acetico anidro R e 50 ml di acqua R. Asciugare la lastra

all'aria e poi a 105 °C fino alla scomparsa dell'odore del butanolo R. Spruzzare uniformemente la lastra con potassio permanganato soluzione alcalina R. Scaldare ancora per circa 60 s ad una temperatura compresa tra 100-110 °C fino alla comparsa di macchie colore giallastro su sfondo rosa. Le macchie principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili, per posizione, colore e dimensioni alle macchie principali dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni di riferimento (a) e (b).

- B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- C. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- D. La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- E. La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- F. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- G. L'acetato e il gluconato sono identificati in base ai tempi di ritenzione dei picchi ottenuti nel cromatogramma come descritto alla Determinazione quantitativa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 6,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,98 U.I. di endotossine per millilitro.

Prodotti di decomposizione. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250,0 ml con acqua R. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (Metodo II, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con acqua R.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (Metodo I, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con acqua R.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio* (K 100 ppm) *R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio* (Ca 400 ppm) *R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio* (Mg 100 ppm) *R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Diluire 25 ml di campione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Solfati. A 20 ml di soluzione aggiungere 1 ml di una soluzione (100 g/l) di *acido perclorico R*, 10 ml di *2-propanolo R* e titolare con *bario perclorato 0,05 M* usando *naftarsona soluzione R* come indicatore, fino a viraggio al rosso.

1 ml di *bario perclorato 0,05 M* equivale a 4,80 mg (0,05 mmol) di SO_4^{2-} .

Potassio fosfato dibasico. Diluire 5,0 ml di preparazione in esame a 10,0 ml con *acqua R* (soluzione a). Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento disciogliendo 0,440 g di *potassio fosfato dibasico R* in *acqua R*, portando al volume di 1000,0 ml. Diluire 25,0 ml di tale soluzione a 100,0 ml con *acqua R* (soluzione b), in modo da ottenere una soluzione di concentrazione (C) esattamente conosciuta molto vicina a 0,11 mg/ml di potassio fosfato dibasico (K_2HPO_4). In tre palloni tarati da 25,0 ml introdurre, rispettivamente, 5,0 ml della soluzione a, 5,0 ml della soluzione b di riferimento e 5,0 ml di *acqua R* (prova in bianco). A ciascuna soluzione aggiungere 10 ml di una soluzione (28 g/l) di *acido solforico R* e mescolare. Aggiungere 1,0 ml di *acido aminoidrossinaftalensolfonico soluzione R* e diluire a 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare e lasciare a riposo a 20-25 °C per 10 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25), a 660 nm, della miscela ottenuta a partire dalla

soluzione a e di quella ottenuta a partire dalla soluzione b di riferimento in confronto con la prova in bianco, osservando rigorosamente lo stesso intervallo di tempo tra la miscelazione delle soluzioni e la misura dell'assorbanza. Calcolare il contenuto in mg/ml di potassio fosfato dibasico (K_2HPO_4) della soluzione in esame mediante la formula $25,27 \times C \times (A_1/A_2)$, dove A_1 e A_2 sono le assorbanze ottenute, rispettivamente, con la soluzione a e con la soluzione b di riferimento.

Acetato e Gluconato. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. La soluzione da esaminare.

Soluzione di riferimento. Diluire 3,12 g di *acido acetico glaciale R* e 5,02 g di *sodio gluconato R* in 1000 ml di *acqua R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna ad esclusione ionica per acidi organici lunga 30 cm e con diametro interno di 7,5 mm impaccata con una resina stirene-divinilbenzene solfonata,
- una precolonna ad esclusione ionica riempita con la stessa fase stazionaria,
- *acido solforico 0,01 M* preventivamente degassato mediante ebollizione sottovuoto, come fase mobile ad un flusso di 0,8 ml per minuto,
- un rivelatore UV a 215 nm,
- un registratore.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C.

Iniettare separatamente 10 μ l di ciascuna soluzione. Se i cromatogrammi sono registrati nelle condizioni prescritte i picchi sono eluiti nel seguente ordine: gluconato e poi acetato. Determinare il contenuto di gluconato e di acetato dall'area dei rispettivi picchi ottenuti con la soluzione di riferimento e con la soluzione in esame.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Elettrolitica reidratante soluzione orale

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro ($C_6H_{12}O_6$), utilizzando la tabella seguente:

Volume di sodio tiosolfato 0,1 M (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione ipertonica endovenosa da usarsi con precauzione, solo a funzionalità renale integra e ad una velocità controllata di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

ELETTROLITICA REIDRATANTE SOLUZIONE ORALE

Soluzione salina per reidratazione orale

La soluzione orale elettrolitica reidratante soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni liquide per uso orale (0672)*.

DEFINIZIONE

La soluzione orale elettrolitica reidratante è una soluzione contenente lo 0,12 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,084 per cento *m/V* di *Sodio cloruro*, lo 0,0051 per cento *m/V* di *Magnesio cloruro esaidrato*, lo 0,0146 per cento *m/V* di *Calcio cloruro*, lo 0,034 per cento *m/V* di *Potassio fosfato dibasico*, l'1,0 per cento *m/V* di *Croscarmellosa sodica* in *Acqua depurata*.

Contiene un idoneo conservante. Può contenere idonei aromatizzanti.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; Cl^- ; HPO_4^{2-}): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente gialla.

IDENTIFICAZIONE

La soluzione dà le reazioni caratteristiche del sodio, del potassio, del calcio, del magnesio, dei cloruri e dei fosfati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,0 e 7,3.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Prelevare un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 60 mg di ione cloruro. Aggiungere 5 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *butile ftalato R*. Agitare e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* in presenza di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* fino a colorazione giallo-rossastra.

1 ml di *argento nitrate* 0,1 M equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Potassio fosfato dibasico. Diluire 5,0 ml di preparazione in esame a 10,0 ml con *acqua R* (soluzione a). Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento disciogliendo 0,680 g di *potassio fosfato dibasico R* in *acqua R*, portando al volume di 1000,0 ml. Diluire 25,0 ml di tale soluzione a 100,0 ml con *acqua R* (soluzione b). In tre palloni tarati da 25,0 ml introdurre, rispettivamente, 5,0 ml della soluzione a, 5,0 ml della soluzione b di riferimento e 5,0 ml di *acqua R* (prova in bianco). A ciascuna soluzione aggiungere 10 ml di una soluzione (28 g/l) di *acido solforico R* e mescolare. Aggiungere quindi 2,0 ml di una soluzione (25 g/l) di *ammonio molibdato R* e agitare. Aggiungere 1,0 ml di *acido aminoidrossinaftalensolfonico soluzione R* e diluire a 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare e lasciare a riposo a 20-25 °C per 10 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25), a 660 nm, della miscela ottenuta a partire dalla soluzione a e di quella ottenuta a partire dalla soluzione b in confronto con la prova in bianco, osservando rigorosamente lo stesso intervallo di tempo tra la miscelazione delle soluzioni e la misura dell'assorbanza. Calcolare il contenuto di K_2HPO_4 della soluzione in esame dal confronto dei valori delle assorbanze ottenute e tenendo conto delle diluizioni.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei, ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il nome di ogni conservante aggiunto.

EMETINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Emetina cloridrato fiale

La preparazione iniettabile di emetina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di emetina è una soluzione sterile e apirogena di *Emetina cloridrato eptaidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Preparazione. Sciogliere l'*Emetina cloridrato* in una parte dell'*Acqua per preparazioni iniettabili* in corrente di *azoto R*; correggere il pH a 3,0 con *Acido cloridrico diluito*, portare a volume e filtrare. Ripartire in fiale da 1 ml e sterilizzare in autoclave.

Alla soluzione può essere aggiunto uno stabilizzante. Contenuto di emetina cloridrato ($C_{29}H_{42}Cl_2N_2O_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire la preparazione con *metanolo R* fino ad ottenere una concentrazione di circa 10 mg/ml di emetina.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 115 mg di *emetina cloridrato SCR* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 100 volumi di *cloroformio R*, 20 volumi di *glicole etilenico monometil etero R*, 5 volumi di *metanolo R*, 2 volumi di *acqua R* e 0,5 volumi di *dietilammina R*. Lasciar seccare la lastra all'aria fino a scomparsa dell'odore dei solventi. Spruzzare, sotto una cappa aspirante, con *iodio soluzione cloroformica R* e scaldare a 60 °C per 15 min. Esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,7 e 4,0.

Endotossine batteriche. Non più di 175 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 2 per cento *m/V* di emetina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Aggiungere ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 200 mg circa di emetina cloridrato, 30 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* ed estrarre con più porzioni successive da 50 ml ciascuna, di *etere R*. Lavare gli estratti eteri riuniti con più porzioni successive, da 10 ml ciascuna, di *acqua R* fino a quando le acque di lavaggio, dopo estrazione con altri 50 ml di *etere R*, risultino neutre al *tor nasole cartina R*. Aggiungere alle soluzioni eterie riunite 20 ml di *acqua R* e 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, agitare, separare la fase acquosa e lavare la fase eterea

Ergometrina compresse

con due porzioni successive da 20 ml ciascuna di *acqua R*. Titolare le fasi acquose riunite con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore *rosso metile soluzione R*.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 27,68 mg di $C_{29}H_{42}Cl_2N_2O_4$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La soluzione contiene Emetina cloridrato eptaidrato corrispondente al 2 per cento m/V di emetina cloridrato, anidra.

ERGOMETRINA COMPRESSE

Le compresse di ergometrina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di ergometrina contengono *Ergometrina maleato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di ergometrina maleato ($C_{23}H_{27}N_3O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a circa 2 mg di ergometrina maleato, aggiungere 20 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. La soluzione presenta una fluorescenza blu.
- A 2 ml della soluzione preparata nel saggio precedente aggiungere 4 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R7*; dopo alcuni minuti si sviluppa una colorazione blu scura.
- Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e colore, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento avente la stessa concentrazione.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa. Aggiungere 10,0 ml di una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R*, agitare per 30 min e centrifugare. A 3,0 ml di questa soluzione aggiungere 6 ml

di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R*: agitare, raffreddare e portare a 10,0 ml con *acqua R*. Lasciare a riposo per 30 min. Procedere come descritto nella Determinazione quantitativa impiegando la soluzione precedente come "soluzione a".

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Eseguire tutte le operazioni al riparo dalla luce e preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Soluzione in esame. Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 2 mg circa di ergometrina maleato, aggiungere 10 ml di *acqua R*, alcalinizzare con *ammoniaca R* ed estrarre con tre porzioni ciascuna da 10 ml di *cloroformio R*. Evaporare a secco, in corrente di aria fredda e senza riscaldare, gli estratti riuniti. Disciogliere il residuo in 0,5 ml di una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*.

Soluzione di riferimento (a). Una soluzione (0,1 g/l) di *ergometrina maleato SCR* in una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*.

Soluzione di riferimento (b). Una soluzione (0,2 g/l) di *ergometrina maleato SCR* in una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*.

Soluzione di riferimento (c). Una soluzione (0,4 g/l) di *ergometrina maleato SCR* in una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 14 cm usando una miscela di 75 volumi di *cloroformio R*, 25 volumi di *metanolo R* e 3 volumi di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra in corrente di aria fredda. Spruzzare con *dimetilamminobenzaldeide soluzione R7*. Seccare la lastra in corrente di aria calda per circa 2 min. Se i cromatogrammi presentano, oltre alla macchia principale, altre macchie, la loro somma, valutata confrontando l'intensità delle singole macchie con quelle delle soluzioni di riferimento (a), (b) e (c), non deve superare il 10 per cento del contenuto in ergometrina maleato. Nessuna delle altre macchie presenti nel cromatogramma della soluzione in esame deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento (a).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Le soluzioni devono essere tenute al riparo dalla luce. Pesare e polverizzare non meno di 20 compresse. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 2 mg circa di ergometrina maleato, con una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. A 3,0 ml di questa soluzione aggiungere 6,0 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R1*, agitare, raffreddare e diluire a 10,0 ml con *acqua R* (soluzione a) e lasciare a riposo

per 30g300 min. Contemporaneamente, preparare in pallone tarato da 200 ml, una soluzione impiegando 8,0 mg, esattamente pesati, di *ergometrina maleato SCR* sciolti in una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R*. Mescolare 3,0 ml di questa soluzione con 6,0 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R7* e diluire a 10 ml con *acqua R* (soluzione b). Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 578 nm usando come bianco una miscela formata da 3 ml di una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R*, 6 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R1* e 1 ml di *acqua R*. Calcolare il contenuto di $C_{23}H_{27}N_3O_6$ dalle assorbanze ottenute.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 0,5 mg di ergometrina maleato.

ERGOMETRINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Ergometrina maleato fiale

La preparazione iniettabile di ergometrina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di ergometrina è una soluzione sterile e apirogena contenente 0,20 mg/ml di *Ergometrina maleato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ergometrina maleato ($C_{23}H_{27}N_3O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: *operare al riparo dalla luce.* Sciogliere l'*Ergometrina maleato* in *Acqua per preparazioni iniettabili* in corrente di *azoto R*, correggere il pH a 3,0 con *Acido maleico*, portare a volume e filtrare. Ripartire in fiale da 1 ml in corrente di *azoto R* e sterilizzare in autoclave.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o leggermente giallina.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione presenta una fluorescenza blu.
- Ad un volume di preparazione, corrispondente a 0,4 mg circa di ergometrina maleato, aggiungere lentamente 4 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R7*: si sviluppa una colorazione blu scura.

- Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento avente la stessa concentrazione.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,7 e 3,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando una lastra ricoperta di uno strato preparato con una sospensione di *gel di silice G R* in *sodio idrossido 0,1 M*.

Eeguire tutte le operazioni al riparo dalla luce e preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Soluzione in esame. Evaporare a secco a 20 °C nel vuoto una quantità di preparazione, corrispondente a 1 mg circa di ergometrina maleato. Disciogliere il residuo in 0,25 ml di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Una soluzione (0,1 g/l) di *ergometrina maleato SCR* in *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (b). Una soluzione (0,2 g/l) di *ergometrina maleato SCR* in *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (c). Una soluzione (0,4 g/l) di *ergometrina maleato SCR* in *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 9 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale, la loro somma, valutata confrontando l'intensità delle singole macchie con quelle delle soluzioni di riferimento (a), (b) e (c), non deve superare il 10 per cento del contenuto in ergometrina maleato e nessuna di esse può essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (a).

Endotossine batteriche. Non più di 142,8 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,02 per cento *m/V* di ergometrina maleato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di soluzione, esattamente misurata, con *acqua R* in modo da ottenere una soluzione contenente 0,04 mg di ergometrina maleato per ml. Contemporaneamente preparare una soluzione (0,04 g/l) di *ergometrina maleato SCR* in *acqua R*. Mescolare 3,0 ml di ciascuna delle soluzioni con 6,0 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R6* e lasciare a riposo per 30 min al riparo dalla luce. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 545 nm usando come

Ergotamina compresse

bianco una miscela formata da 3 ml di *acqua R* e 6 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R6*. Calcolare il contenuto di $C_{23}H_{27}N_3O_6$ dalle assorbanze ottenute.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ERGOTAMINA COMPRESSE

Le compresse di ergotamina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di ergotamina contengono *Ergotamina tartrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di ergotamina tartrato ($C_{70}H_{76}N_{10}O_{16}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di compresse polverizzate corrispondente a circa 5 mg di ergotamina tartrato, aggiungere 10 ml di *esano R*, agitare per pochi min e lasciare a riposo. Allontanare il sopratanante ed aggiungere al residuo 10 ml di *cloroformio R* saturato con *ammoniaca R*. Agitare per alcuni minuti, filtrare ed evaporare a secco. Disciogliere il residuo in una miscela di 4 ml di *acido acetico glaciale R* e 4 ml di *etile acetato R*. Ad 1 ml di questa soluzione aggiungere, lentamente, agitando e raffreddando, 1 ml di *acido solforico R*. Si sviluppa una colorazione blu con sfumatura rossa. Aggiungere 0,1 ml di *ferro (-ico) cloruro soluzione R2*: la sfumatura rossa diventa meno evidente e la colorazione blu più intensa.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente una compressa e aggiungere 20 ml di una soluzione (100 g/l) di *acido tartarico R*. Agitare la sospensione e centrifugare. Contemporaneamente preparare, in pallone tarato da 200 ml, una soluzione di confronto, impiegando 10 mg, esattamente pesati, di *ergotamina tartrato SCR* sciolti in una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R*. Mescolare 3,0 ml di ciascuna delle soluzioni con 6,0 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R7* e lasciare a riposo per 20 min al riparo dalla luce.

Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 578 nm usando come bianco una miscela formata da 3 ml di una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R* e 6 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R7*. Calcolare il contenuto di $(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$ dalle assorbanze ottenute. Ripetere l'operazione su altre 9 compresse.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando una lastra ricoperta di uno strato preparato con una sospensione di *gel di silice G R* in *sodio idrossido 0,1 M*.

Eseguire tutte le operazioni al riparo dalla luce e preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere corrispondente a 1 mg circa di ergotamina tartrato aggiungere 2 ml di una miscela di volumi eguali di *cloroformio R* e *metanolo R*. Agitare per alcuni min, centrifugare e raccogliere il sopratanante. Ripetere l'estrazione con due porzioni, ciascuna da 1 ml, della stessa miscela di solventi. Riunire gli estratti ed evaporarli a secco a 20 °C a pressione ridotta. Disciogliere il residuo in 0,25 ml della stessa miscela di solventi centrifugando se necessario.

Soluzione di riferimento (a). Una soluzione (0,1 g/l) di *ergotamina tartrato SCR* in una miscela di volumi eguali di *cloroformio R* e *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (b). Una soluzione (0,2 g/l) di *ergotamina tartrato SCR* in una miscela di volumi eguali di *cloroformio R* e *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (c). Una soluzione (0,4 g/l) di *ergotamina tartrato SCR* in una miscela di volumi eguali di *cloroformio R* e *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl della soluzione in esame e 20 µl di ciascuna soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 9 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 366 nm. I cromatogrammi presentano, oltre alla macchia principale, altre macchie e la loro somma, valutata confrontando l'intensità delle singole macchie con quelle delle soluzioni di riferimento (a), (b) e (c), non deve superare il 10 per cento del contenuto in ergotamina tartrato. Nessuna delle altre macchie presenti nel cromatogramma della soluzione in esame deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento (a).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Le soluzioni devono essere tenute al riparo dalla luce.

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Disciogliere una quantità di polvere esattamente pesata e corrispondente a 10 mg circa di ergota-

mina tartrato con una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R* e diluire a 200,0 ml con lo stesso solvente. Contemporaneamente preparare in pallone tarato da 200 ml, una soluzione di confronto, impiegando 10 mg, esattamente pesati, di *ergotamina tartrato SCR* sciolti in una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R*. Mescolare 3,0 ml di ciascuna delle soluzioni con 6,0 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R6* e lasciare a riposo per 20 min al riparo dalla luce. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 578 nm usando come bianco una miscela formata da 3 ml di una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R* e 6 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R1*. Calcolare il contenuto di ($C_{70}H_{76}N_{10}O_{16}$) dalle assorbanze ottenute.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa e al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 1 mg di ergotamina tartrato.

ERGOTAMINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Ergotamina tartrato fiale

La preparazione iniettabile di ergotamina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di ergotamina è una soluzione sterile avente la seguente composizione:

<i>Ergotamina tartrato</i>	250 mg
<i>Etanolo 96 per cento</i>	50 ml
<i>Glicerolo 85 per cento</i>	150 ml
<i>Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a</i>	1000 ml

Preparazione: Operare al riparo dalla luce. Disciogliere l'*Ergotamina tartrato* in una parte di *Acqua per preparazioni iniettabili* in corrente di *azoto R*. Correggere il pH a 3,3 con *acido tartarico R*, aggiungere l'*Etanolo 96 per cento* e il *Glicerolo 85 per cento*. Portare a volume e sterilizzare per filtrazione. Ripartire la soluzione in fiale di vetro scuro da 1 ml in corrente di *azoto R*.

Contenuto di alcaloidi: non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in

etichetta di alcaloidi totali di cui non meno del 50,0 per cento e non più del 70,0 per cento come ergotamina tartrato ($C_{33}H_{35}N_5O_5$)₂·C₄H₆O₆.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o quasi incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Ad 1 ml aggiungere lentamente 0,1 ml di *dimetilamminobenzaldeide soluzione R7*: si sviluppa immediatamente una intensa colorazione azzurra.
- Ad un volume equivalente ad 1 mg di ergotamina tartrato aggiungere 5 ml di *acido acetico glaciale R* e 5 ml di *etile acetato R*; ad 1 ml di questa soluzione aggiungere lentamente, agitando e raffreddando, 1 ml di *acido solforico R*: si sviluppa una colorazione blu con sfumature rosse.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,8 e 3,8.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Eeguire tutte le operazioni al riparo dalla luce e preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Soluzione in esame. Alcalinizzare una quantità di soluzione corrispondente a circa 5 mg di ergotamina tartrato con una soluzione (100 g/l) di *sodio bicarbonato R* ed estrarre con cinque porzioni successive da 10 ml ciascuna di *cloroformio R*. Filtrare gli estratti cloroformici attraverso cotone imbevuto di *cloroformio R*, lavare il cotone con *cloroformio R*, evaporare a secco a 20 °C nel vuoto e disciogliere il residuo in 1 ml di una miscela di uguali volumi di *metanolo R* e *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 mg di *ergotamina tartrato SCR* in 10 ml di una soluzione (10 g/l) di *acido tartarico R*. Procedere quindi come descritto per la Soluzione in esame.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl e 2 µl della soluzione in esame e 14 µl, 10 µl, 7 µl e 2 µl della soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 9 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra al-

l'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta due macchie principali corrispondenti all'ergotamina e all'ergotaminina. Tra le due macchie principali e al di sotto di esse possono essere presenti altre macchie di minore entità. La macchia corrispondente all'ergotaminina non deve essere più grande o più intensa della macchia corrispondente all'ergotamina, visibile sul cromatogramma ottenuto con 7 µl della soluzione di riferimento; la macchia corrispondente all'ergotamina non deve essere più piccola o meno intensa della macchia dell'ergotamina visibile sul cromatogramma ottenuto con 10 µl della soluzione di riferimento e non più grande o più intensa della macchia corrispondente all'ergotamina visibile sul cromatogramma ottenuto con 14 µl della soluzione di riferimento (non meno del 50 per cento e non più del 70 per cento di ergotamina tartrato).

Endotossine batteriche. La concentrazione massima ammessa è di 178,5 U.I per ml di soluzione allo 0,025 per cento *m/V* di ergotamina tartrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di soluzione, esattamente misurata, con una soluzione (2,5 g/l) di *acido tartarico R* in modo da ottenere una soluzione contenente 0,05 mg di ergotamina tartrato per ml. Contemporaneamente preparare in pallone tarato da 200 ml, una soluzione di confronto, impiegando 6,7 mg, esattamente pesati, di *ergometrina maleato SCR* sciolti in una soluzione (2,5 g/l) di *acido tartarico R*. Mescolare 3,0 ml di ciascuna delle soluzioni con 6,0 ml di *dimetilaminobenzaldeide soluzione R6* e lasciare a riposo per 20 min al riparo dalla luce. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 545 nm usando come bianco una miscela formata da 3 ml di una soluzione (2,5 g/l) di *acido tartarico R* e 6 ml di *dimetilaminobenzaldeide soluzione R6*. Calcolare la quantità di alcaloidi totali, espressi come ergotamina tartrato ($C_{33}H_{35}N_5O_5$)₂.C₄H₆O₆ dalle assorbanze ottenute.

1 mg di *ergometrina maleato SCR* equivale a 1,488 mg di ($C_{33}H_{35}N_5O_5$)₂.C₄H₆O₆.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ERITROMICINA CREMA

La crema di eritromicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema di eritromicina contiene *Eritromicina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di eritromicina (C₃₇H₆₇NO₁₃): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Crema idrofila bianca, di consistenza pastosa omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Riscaldare moderatamente, agitando a b.m., una quantità di preparazione, corrispondente a 10 mg circa di eritromicina, con 15 ml di *metanolo R*. Raffreddare, diluire a 20,0 ml con *metanolo R* e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Una soluzione (0,5 g/l) di *eritromicina SCR* in *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (b). Una soluzione (1 g/l) di *spiramicina SCR* in *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando lo strato superiore di una miscela di 4 volumi di *2-propanolo R*, 9 volumi di *etile acetato R* e 8 volumi di *ammonio acetato soluzione R* precedentemente portata a pH 9,6 con *ammoniaca R*. Lasciar seccare la lastra all'aria, spruzzare con *aldeide anisica soluzione R1*, e seccare a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione dimensione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a), ma è diversa per posizione e colore dalle macchie del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente pesata e corrispondente a 50 mg circa di eritromicina, aggiungere 70 ml di *metanolo R*, riscaldare moderatamente a b.m. e raffreddare. Diluire a 100,0 ml con *metanolo R* e filtrare. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *eritromicina SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipiente di materiale idoneo, ben chiuso, al riparo dalla luce.

La crema contiene il 3 per cento m/m di eritromicina.

ERITROMICINA SOLUZIONE CUTANEA

Eritromicina lozione

La soluzione cutanea di eritromicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazione liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di eritromicina contiene *Eritromicina* in adeguati eccipienti.

Gli eccipienti possono essere costituiti da *etanolo anidro* o *alcool isopropilico* eventualmente insieme con *acetone* e *macrogol 400*.

Preparazione: in atmosfera di *azoto R* e limitando al massimo la presenza di umidità nel prodotto.

È consentito un eventuale sovradosaggio del 15 per cento.

Contenuto di eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento dalla quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o leggermente gialla.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di preparazione in esame, contenente 10 mg di eritromicina, a 10 ml con *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *eritromicina SCR* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 85 volumi di *cloroformio R* e 20 volumi di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria, spruzzare con una soluzione di 90 volumi di *etanolo R*, 5 volumi di *4-metossibenzaldeide R* e 5 volumi di *acido solforico R* e seccare a 100 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensioni, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire un volume di preparazione in esame contenente 100 mg di eritromicina a 150 ml con *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione ottenuta è compreso tra 8,0 e 9,7.

Acqua (2.5.12). Non superiore al 2 per cento determinata mediante il metodo semimicro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In un pallone tarato diluire una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 100 mg di eritromicina, a 100 ml con *metanolo R*. Diluire 1 ml della soluzione ottenuta a 500 ml con *tampone fosfato soluzione a pH 8 R*. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *eritromicina SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipienti di materiale idoneo, ben chiusi, al riparo dalla luce.

La soluzione cutanea contiene il 2 per cento m/V o il 3 per cento m/V di eritromicina

ERITROMICINA ETILSUCCINATO GRANULATO PER SOSPENSIONE ORALE

Al granulato di eritromicina etilsuccinato si applicano anche i requisiti definiti nelle monografie Granulati (0499) e Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Il granulato per sospensione orale di eritromicina etilsuccinato contiene *Eritromicina etilsuccinato* in adeguati eccipienti.

CARATTERI

Granulato omogeneo di dimensioni variabili.

Preparazione della sospensione: al granulato contenuto nel flacone aggiungere acqua fino al segno riportato sul flacone stesso. Chiudere il flacone, agitare energicamente fino alla formazione di una sospensione omogenea.

Contenuto di eritromicina nella preparazione ricostituita di recente ($C_{37}H_{67}NO_{13}$): compresa tra il 95,0 per cento e il 110,0 per cento della quantità di eritromicina indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di riferimento.

Soluzione in esame. Trasferire in un pallone tarato da 25 ml una quantità di preparazione corrispondente a 50 mg di eritromicina etilsuccinato, aggiungere *metanolo R*, agitare bene per 15 min, diluire a 25 ml e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *eritromicina etilsuccinato SCR* in 25 ml di *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 80 volumi di *cloroformio R*, 20 volumi di *metanolo R* e 2,5 volumi di *acqua R*. Asciugare la lastra all'aria, spruzzare con una soluzione (200 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *etanolo R*. Asciugare la lastra a 70 °C. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione, preparata come indicato, è compreso tra 7,0 e 9,0.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 2,0 per cento, determinata sul granulato, a 60 °C nel vuoto, per 3 h.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Agitare bene la sospensione. Trasferire in un pallone tarato da 100 ml una quantità di sospensione, esattamente misurata e corrispondente a 100 mg circa di eritromicina, aggiungere 40 ml di *metanolo R*, agitare per 5 min e diluire a 100,0 ml con *tampone soluzione a pH 8,0 R*. Lasciare a riposo per 16 h. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *eritromicina SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di eritromicina.

Il granulato per sospensione orale contiene eritromicina etilsuccinato corrispondente al 5 per cento m/m o all'8 per cento m/m di eritromicina.

La sospensione orale preparata secondo le istruzioni contiene il 2,5 per cento m/V o il 4 per cento m/V di eritromicina.

ERITROMICINA LATTOBIONATO PREPARAZIONE INIETTABILE

Eritromicina lattobionato polvere sterile
per preparazioni iniettabili.

La preparazione iniettabile di eritromicina lattobionato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di eritromicina lattobionato è una soluzione sterile di *Eritromicina lattobionato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile nel prescritto volume di solvente.

Eritromicina lattobionato per preparazioni iniettabili

L'eritromicina lattobionato per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'eritromicina lattobionato per preparazioni iniettabili è costituita da Eritromicina lattobionato polvere sterile con o senza eccipienti. La polvere sterile può anche essere liofilizzata.

Contenuto di eritromicina, calcolato come somma di eritromicina A ($C_{37}H_{67}NO_{13}$), eritromicina B ($C_{37}H_{67}NO_{12}$) e eritromicina C ($C_{36}H_{65}NO_{13}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando gel di silice *H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere corrispondente a circa 30 mg di eritromicina lattobionato in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 20 mg di eritromicina A *SCR* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di acido lattobionico *R* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 3 volumi di *acido acetico glaciale R*, 10 volumi di *acqua R* e 90 volumi di *metanolo R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria, spruzzare con una soluzione (5 g/l) di *potassio permanganato R* in *sodio idrossido 1 M* e scaldare a 110 °C per 5 min.

Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta due macchie, una delle quali corrisponde per posizione, colore e dimensione alla macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) e l'altra alla macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

- B. Ad una quantità di polvere corrispondente a circa 5 mg di eritromicina aggiungere 5 ml di una soluzione (0,2 g/l) di *xantidolo R* in una miscela di 1 volume di *acido cloridrico R* e 99 volumi di *acido acetico R*. Si sviluppa una colorazione rossa.
- C. Disciogliere una quantità di polvere corrispondente a circa 10 mg di eritromicina in 5 ml di *acido cloridrico R1*. Si sviluppa una colorazione verde-giallastra.

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere una quantità corrispondente a 0,50 g di eritromicina lattobionato in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 25 ml con lo stesso solvente. Il pH della soluzione è compreso tra 6,5 e 7,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29), come indicato nella Determinazione quantitativa. I singoli contenuti di eritromicina B e quello di eritromicina C non sono maggiori del 5,0 per cento della quantità totale di eritromicina. Iniettare la soluzione di riferimento (d). Iniettare la soluzione in esame e continuare la cromatografia per cinque volte il tempo di ritenzione della eritromicina A. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, l'area di qualsiasi picco, ad eccezione dei picchi corrispondenti all'eritromicina A, eritromicina B o eritromicina C, non è maggiore dell'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (d) (3 per cento).

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,35 U.I. per mg di eritromicina.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Eritromicina stearato compresse rivestite con film

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere, ottenuta miscelando il contenuto di 20 flaconcini, equivalente a 60,0 mg della sostanza in esame in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 3 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 40,0 mg di *eritromicina A SCR* in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 3 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R* e diluire a 10,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10,0 mg di *eritromicina B SCR* e 10,0 mg di *eritromicina C SCR* in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 3 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R* e diluire a 50,0 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 5 mg di *N-demetileritromicina A SCR* nella soluzione di riferimento (b). Aggiungere 1,0 ml della soluzione di riferimento (a) e diluire a 25 ml con la soluzione di riferimento (b).

Soluzione di riferimento (d). Diluire 3,0 ml della soluzione di riferimento (a) a 100,0 ml con una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 3 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 7,0 R*.

La soluzione in esame e le soluzioni di riferimento possono essere utilizzate entro un giorno se conservate a 5 °C.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *stirene-divinilbenzene copolimero R* (da 8 µm a 10 m) con una grandezza dei pori di 100 nm,
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 2,0 ml per minuto, una soluzione preparata nel modo seguente: a 50 ml di una soluzione (35 g/l) di *potassio fosfato dibasico R* con pH portato a 9,0 con *acido fosforico diluito R*, aggiungere 400 ml di *acqua R*, 165 ml di *2-metil-2-propanolo R* e 30 ml di *acetone R* e diluire a 1000 ml con *acqua R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 215 nm,
- volume di iniezione: 100 µl.

Mantenere la colonna a 70 °C. Iniettare la soluzione di riferimento (c). Le sostanze sono eluite nell'ordine seguente: *N-demetileritromicina A*, *eritromicina C*, *eritromicina A* ed *eritromicina B*. Il saggio è valido solo se la risoluzione tra i picchi corrispondenti a *N-demetileritromicina A* e *eritromicina C* è per lo meno 0,8 e la risoluzione tra i picchi corrispondenti a *N-demetileritromi-*

cina A e *eritromicina A* è per lo meno 5,5. Se necessario, regolare la concentrazione di 2-metil-2-propanolo nella fase mobile o ridurre opportunamente la velocità di flusso. Iniettare la soluzione di riferimento (a) sei volte. Il saggio è valido solo se la deviazione standard relativa dell'area del picco dovuto alla *eritromicina A* è al massimo del 2,0 per cento. Iniettare alternativamente la soluzione in esame e le soluzioni di riferimento (a) e (b).

Calcolare il contenuto percentuale di *eritromicina A* utilizzando il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Calcolare i contenuti di *eritromicina B* e *eritromicina C* usando il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di *eritromicina lattobionato* espresso in termini di *eritromicina*,
- che la soluzione ricostituita va iniettata immediatamente.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere eritromicina lattobionato polvere sterile corrispondente a 500 mg o 1 g di eritromicina; le fiale di solvente contengono i volumi previsti di Acqua per preparazioni iniettabili.

ERITROMICINA STEARATO COMPRESSE RIVESTITE CON FILM

Le compresse, rivestite con film, di eritromicina stearato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse, rivestite con film, di *eritromicina stearato* contengono *Eritromicina stearato* in adeguati eccipienti.

Attività dell'*eritromicina* (C₃₇H₆₇NO₁₃): compresa tra il 90,0 per cento e il 125,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse, trasferire in un pallone tarato una quantità di polvere, corrispondente a circa 50 mg di eritromicina stearato e diluire a 25 ml con *metanolo R*. Agitare per 15 min e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *eritromicina stearato SCR* in 25 ml di *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 80 volumi di *cloroformio R*, 20 volumi di *metanolo R* e 2,5 volumi di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria, spruzzare con una soluzione (200 g/l) di *acido fosfomolibdico R* in *etanolo R* e riscaldare a 70 °C. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 100 mg di eritromicina stearato, aggiungere 70 ml di *metanolo R*, agitare, diluire a 100,0 con lo stesso solvente e filtrare. Diluire 1,0 ml del filtrato a 500,0 ml con *tampone soluzione a pH 8 R*. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *eritromicina SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di eritromicina.

Le compresse contengono 250 mg di eritromicina.

ETAMBUTOLO COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di etambutolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di etambutolo contengono *Etambutolo cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di etambutolo cloridrato ($C_{10}H_{26}Cl_2N_2O_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- Esaminare i cromatogrammi ottenuti al saggio per il 2-Amminobutanolo. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e colore a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.
- Sospendere una quantità di compresse polverizzate corrispondente a circa 100 mg di etambutolo cloridrato in 10 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. Aggiungere al filtrato 2 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R* e 1 ml di *sodio idrossido 1 M*; si sviluppa una intensa colorazione blu.

SAGGI

2-Amminobutanolo. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare per 5 min una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a circa 50 mg di etambutolo cloridrato con una quantità sufficiente di *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di 2-amminobutanolo *R* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Diluire 1 ml di questa soluzione a 10 ml con *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 15 volumi di *acqua R* e 75 volumi di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria, scaldare a 110 °C per 10 min, raffreddare e spruzzare con *ninidrina soluzione R1*. Scaldare la lastra a 110 °C per 5 min. Un'even-

Eugenolo e clorobutanolo soluzione dentale

tuale macchia corrispondente al 2-amminobutanolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame non è più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (1,0 per cento).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare non meno di 20 compresse. Trasferire una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a circa 200 mg di etambutolo cloridrato, in un imbuto separatore contenente 10 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Estrarre con cinque porzioni da 25 ml ciascuna di *cloroformio R*. Filtrare le fasi organiche riunite lavando quantitativamente il filtro ed evaporare a secco. Disciogliere il residuo in 50 ml di *acido acetico glaciale R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M* utilizzando come indicatore *crystal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 13,86 mg di $C_{10}H_{26}Cl_2N_2O_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 200 mg o 400 mg di etambutolo cloridrato.

EUCALIPTO COMPOSTO GOCCE NASALI

Le gocce nasali di eucalipto composto soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

Le gocce nasali hanno la seguente composizione:

<i>Eucalipto essenza</i>	1,5 g
<i>Canfora racemica</i>	0,2 g
<i>Mentolo racemico</i>	0,2 g
<i>Timolo</i>	50 mg
<i>Olio d'oliva vergine q.b. a</i>	100 g

Preparazione: mescolare il *Mentolo racemico*, la *Canfora racemica* ed il *Timolo*; aggiungere alla miscela l'*Eucalipto essenza* e portare a peso con l'*Olio d'oliva vergine*.

CARATTERI

Liquido oleoso di odore aromatico penetrante.

CONSERVAZIONE

In recipiente di vetro scuro, ben riempito, ben chiuso, protetto dalla luce e dal calore.

EUCALIPTO E PINO SILVESTRE UNGUENTO

Balsamico per bambini

L'unguento all'eucalipto e pino silvestre soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento ha la seguente composizione:

<i>Eucalipto essenza</i>	8 g
<i>Pino silvestre essenza</i>	10 g
<i>Paraffina solida</i>	24 g
<i>Vaselina bianca</i>	58 g

Preparazione: omogeneizzare la *Paraffina solida* e la *Vaselina bianca*, fuse a b.m. Lasciar raffreddare e prima che la massa sia completamente rappresa incorporare, a piccole porzioni, la miscela delle essenze.

CARATTERI

Unguento bianco o quasi bianco, translucido, omogeneo, di odore caratteristico delle essenze.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce, al riparo da fonti di calore.

EUGENOLO E CLOROBUTANOLO SOLUZIONE DENTALE

Gocce odontalgiche

La soluzione dentale di eugenolo e clorobutanolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oromucosali (1807).

DEFINIZIONE

La soluzione dentale di eugenolo e clorobutanolo contiene il 10 per cento *m/m* di *Eugenolo* e il 2 per cento *m/m* di *Clorobutanolo emiidrato* in adeguato veicolo etero alcoolico aromatizzato.

Contenuto di eugenolo ($C_{10}H_{12}O_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di clorobutanolo emiidrato ($C_4H_7Cl_3O \cdot \frac{1}{2}H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido oleoso, leggermente giallastro di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. I picchi nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) sono simili per tempo di ritenzione a quelli dovuti all'eugenolo e al clorobutanolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), utilizzando *mentolo R* come standard interno.

Soluzione in esame (a). Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 100 mg circa di eugenolo, aggiungere 0,050 g di *mentolo R* e diluire a 50,0 ml con *etanolo R*.

Soluzione in esame (b). Diluire 1,0 ml della soluzione in esame (a) a 25,0 ml con *etanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 0,050 g di *clorobutanolo R*, 0,050 g di *mentolo R* e 0,050 g di *eugenolo R* in 50,0 ml di *etanolo R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1,0 ml della soluzione di riferimento (a) a 25,0 ml con *etanolo R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di circa 0,32 mm, impaccata con *poli[metil(95)fenil(5)]silossano R*,
- *idrogeno per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 2 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 70 °C per 1 min, quindi innalzarla, ad una velocità di 30 °C per minuto fino a 250 °C e mantenerla a 250 °C per 3 min. Mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 280 °C. Iniettare 0,5 µl di soluzione di riferimento (b). Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della

soluzione di riferimento (a). Registrare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se la risoluzione fra il picco del clorobutanolo e quello del mentolo è almeno 10 e se la risoluzione fra il picco del mentolo e quello dell'eugenolo è almeno 10. Iniettare circa 0,5 µl della soluzione in esame (b). Usare i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) ed individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame. Non considerare il picco dovuto al solvente e allo standard interno.

Ripetere le iniezioni della soluzione di riferimento (b) e della soluzione in esame (b) fino ad ottenere dei valori riproducibili.

Calcolare il contenuto percentuale di eugenolo e clorobutanolo mediante il metodo dello standard interno (2.2.46).

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi di vetro scuro, al riparo dalla luce e dal calore.

FENILBUTAZONE COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di fenilbutazone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di fenilbutazone contengono *Fenilbutazone* in adeguati eccipienti.

Contenuto di fenilbutazone ($C_{19}H_{20}N_2O_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare a caldo una quantità di polvere, corrispondente a circa 200 mg di fenilbutazone, con 50 ml circa di *acetone R*, filtrare ed evaporare a secco il filtrato. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- A. Disciogliere il residuo in *sodio idrossido 1 M* in modo da ottenere una soluzione contenente circa

Fenilbutazone supposte

10 µg/ml di fenilbutazone. Esaminata tra 240 nm e 350 nm (2.2.25) la soluzione mostra un massimo di assorbimento a 264 nm.

- B. A 0,10 g di residuo aggiungere 1 ml di *acido acetico glaciale R* e 2 ml di *acido cloridrico R* e scaldare la miscela a ricadere per 30 min. Raffreddare, aggiungere 10 ml di *acqua R* e filtrare. Al filtrato aggiungere 3 ml di una soluzione (7 g/l) di *sodio nitrito R*: si sviluppa una colorazione gialla. Ad 1 ml di questa soluzione aggiungere una soluzione di 10 mg di *β-naftolo R* in 5 ml di *sodio carbonato soluzione R*. Si forma un precipitato di colore dal marrone-rossastro al viola-rossastro. Disciogliere il precipitato in *alcool R*; si sviluppa una colorazione rossa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 500 mg di fenilbutazone, aggiungere 150 ml di *sodio idrossido 0,1 M*, agitare per 45 min e diluire a 250,0 ml con *sodio idrossido 0,1 M*; filtrare ed eliminare i primi 20 ml del filtrato. Trasferire 5,0 ml del filtrato successivo in un imbuto separatore; aggiungere 50 ml di *acqua R* e 4 ml di *acido cloridrico R*, estrarre con 3 porzioni successive da 30 ml di *etere R*. Estrarre per 3 volte gli estratti eteri, riuniti, con 30 ml di *sodio idrossido 0,1 M*. Diluire gli estratti alcalini, dopo eliminazione dell'etere residuo in corrente di *azoto R*, a 100 ml con *sodio idrossido 0,1 M*. Diluire 10 ml di questa soluzione a 100 ml con *acqua R*. Determinare l'assorbanza della soluzione (2.2.25) al massimo di assorbimento a 264 nm circa, utilizzando *sodio idrossido 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{19}H_{20}N_2O_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 660.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 200 mg di fenilbutazone.

FENILBUTAZONE SUPPOSTE

Le supposte di fenilbutazone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145).

DEFINIZIONE

Le supposte di fenilbutazone contengono 250 mg di *Fenilbutazone* in *Gliceridi semisintetici solidi*.

Contenuto di fenilbutazone ($C_{19}H_{20}N_2O_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Supposte bianche o bianche giallastre, omogenee, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Sciogliere una supposta in 50 ml di *etere R* ed estrarre con 20 ml di *ammoniaca diluita R2*; agitare l'estratto acquoso con 30 ml di *etere R* ed eliminare l'etere. Aggiungere *acido cloridrico 2 M* fino ad acidità al *rosso Congo R* ed estrarre con 100 ml di *etere R*. Lavare l'estratto etero con 10 ml di *acqua R*, seccare su *sodio solfato anidro R*, evaporare quasi a secco ed essiccare sotto vuoto a 60 °C per 30 min. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- A. Disciogliere 50 mg di residuo in *sodio idrossido 0,01 M* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 100 ml con *sodio idrossido 0,01 M*. La soluzione ottenuta, esaminata allo spettrofotometro tra 240 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un solo massimo di assorbimento a 264 nm. Il valore dell'assorbanza specifica al massimo di assorbimento è compreso tra 650 e 700.
- B. A 0,10 g di residuo aggiungere 1 ml di *acido acetico glaciale R* e 2 ml di *acido cloridrico R* e scaldare la miscela a ricadere per 30 min. Raffreddare, aggiungere 10 ml di *acqua R* e filtrare. Al filtrato aggiungere 3 ml di una soluzione (7 g/l) di *sodio nitrito R*: si sviluppa una colorazione gialla. Ad 1 ml di questa soluzione aggiungere una soluzione di 10 mg di *β-naftolo R* in 5 ml di *sodio carbonato soluzione R*. Si forma un precipitato di colore dal marrone-rossastro al viola-rossastro. Disciogliere il precipitato in *alcool R*; si sviluppa una colorazione rossa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e suddividere finemente non meno di 20 supposte. Disciogliere una quantità di prodotto, esattamente pesata e corrispondente a 0,5 g di fenilbutazone, in 70 ml di *acetone R*. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, in presenza di 0,5 ml di *azzurro bromotimolo soluzione R1*, fino ad ottenere una colorazione blu persistente per 15 s. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 30,84 mg di $C_{19}H_{20}N_2O_2$.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

FENILEFRINA COLLIRIO SOLUZIONE

Fenilefrina cloridrato soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di fenilefrina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di fenilefrina è una soluzione isotonica sterile contenente l'1 per cento *m/V* di *Fenilefrina cloridrato*.

La preparazione può contenere un agente tamponante. Contenuto di fenilefrina cloridrato ($C_9H_{14}ClNO_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il tempo di ritenzione del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è approssimativamente simile a quello del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,0 e 7,5 per la soluzione tamponata e tra 3,0 e 4,5 per quella non tamponata.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 100 mg circa di fenilefrina cloridrato, a 100,0 ml con *sodio cloruro soluzione R*.

Soluzione di riferimento. Una soluzione (1 g/l) di *fenilefrina cloridrato SCR* in *sodio cloruro soluzione R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsilicato per cromatografia R* (5-10 μ m),

- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 2 ml per minuto, una miscela di 4 volumi di *metanolo R* e 1 volume di *acqua R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm.

Iniettare separatamente 10 μ l di ciascuna soluzione. Registrare i cromatogrammi e determinare le aree dei picchi. Calcolare il contenuto di $C_9H_{14}ClNO_2$ tenendo conto delle aree dei picchi e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

FENILEFRINA GOCCE NASALI SOLUZIONE

Le gocce nasali soluzione di fenilefrina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

Le gocce nasali soluzione di fenilefrina hanno la seguente composizione:

<i>Fenilefrina cloridrato</i>	2,5	g
<i>Sodio citrato</i>	0,075	g
<i>Benzalconio cloruro</i>	0,100	g
<i>Acqua depurata q.b. a</i>	1000	ml

La preparazione contiene un adeguato antiossidante. Contenuto di fenilefrina cloridrato ($C_9H_{14}ClNO_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Ad alcuni millilitri di preparazione aggiungere una goccia di *rame(-ico) solfato soluzione R* ed 1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*: si sviluppa una colorazione blu non estraibile con *etere R*.
- Ad alcuni millilitri di preparazione aggiungere una goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*: si sviluppa una colorazione rossa.

Fenilefrina e idrocortisone gocce nasali sospensione

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg circa di fenilefrina cloridrato, a 100,0 ml con *acido solforico diluito R*. Diluire 10,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con lo stesso solvente. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 273 nm. Calcolare il contenuto di $C_9H_{14}ClNO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 90.

CONSERVAZIONE

In recipienti chiusi, al riparo dalla luce.

FENILEFRINA E IDROCORTISONE GOCCE NASALI SOSPENSIONE

Le gocce nasali sospensione di fenilefrina e idrocortisone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

Le gocce nasali sospensione di fenilefrina e idrocortisone hanno la seguente composizione:

<i>Fenilefrina cloridrato</i>	3	g
<i>Benzalconio cloruro</i>	0,100	g
<i>Polisorbato 80</i>	500	g
<i>Idrocortisone acetato</i> micronizzato	5	g
<i>Acqua depurata</i> q.b. a	1000	ml

La preparazione contiene un adeguato antiossidante.

Preparazione: disciogliere la *Fenilefrina cloridrato*, il *Benzalconio cloruro* e il *Polisorbato 80* in una parte di *Acqua depurata* e filtrare. Disperdere nel filtrato l'*Idrocortisone acetato*, convenientemente micronizzato e portare a volume con l'*Acqua depurata* rimanente. Ripartire la sospensione, sotto agitazione nei contenitori.

Contenuto di fenilefrina cloridrato ($C_9H_{14}ClNO_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di idrocortisone acetato ($C_{23}H_{32}O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione che per agitazione si disperde uniformemente; dopo riposo presenta sul fondo un flocculato bianco.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La sospensione in esame ben agitata.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 30 mg di *fenilefrina cloridrato SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 50 mg di *idrocortisone acetato SCR* in 10 ml di *alcool R*.

Deporre separatamente sulla lastra 50 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 100 volumi di *metanolo R* e 1,5 volumi di *ammoniacca R*. Seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta due macchie: una (con R_f di circa 0,5) simile alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) ed una (con R_f di circa 0,9) simile alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b). Spruzzare con una soluzione (10 g/l) di *potassio permanganato R*: la macchia corrispondente alla fenilefrina si colora in giallo. Spruzzare con una soluzione (10 g/l) di *blu tetrazolio soluzione alcalina R*: la macchia corrispondente all'idrocortisone si colora in rosso-violetto.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione è compreso tra 4,5 e 5,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Fenilefrina. Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg circa di fenilefrina cloridrato, a 100,0 ml con *acido solforico diluito R*. Diluire 10,0 ml a 100,0 ml con lo stesso solvente. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 273 nm. Calcolare il contenuto di $C_9H_{14}ClNO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 90.

Idrocortisone acetato. *Operare al riparo dalla luce.* Centrifugare una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 25 mg circa di idrocortisone acetato. Lavare la fase solida con 10 ml di *acqua R* e ripetere la centrifugazione scartando il liquido sur-

nante. Disciogliere il residuo, agitando, in *alcool esente da aldeide R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Preparare contemporaneamente una soluzione (0,250 g/l) di *idrocortisone acetato SCR* in *alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 1 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come riferimento 10 ml di *alcool esente da aldeide R* trattati alla stessa maniera. Determinare il contenuto di $C_{23}H_{32}O_6$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

CONSERVAZIONE

In adatto contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

FENITOINA COMPRESSE

Fenitoina sodica compresse

Le compresse di fenitoina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di fenitoina contengono *Fenitoina sodica* in adeguati eccipienti.

Contenuto di fenitoina sodica ($C_{15}H_{12}N_2NaO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

A. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 0,1 g circa di fenitoina sodica, con 20 ml di *acqua R*. Filtrare. Acidificare con *acido cloridrico diluito R* e agitare con tre porzioni, da 30 ml ciascuna, di *cloroformio R*. Lavare gli strati di cloroformio, riuniti, con *acqua R*, evaporare a secco e seccare il residuo a 100-105 °C (residuo in esame). Ripetere le operazioni usando 0,1 g di *fenitoina sodica SCR* (residuo di riferimento). Esaminare il residuo in esame

mediante spettrofotometria di assorbimento nell'infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con il residuo di riferimento. Esaminare come dispersione in pasticche preparate usando *potassio bromuro R*.

B. Agitare una quantità di polvere corrispondente a 0,5 g di fenitoina sodica con 10 ml di *acqua R* e filtrare. Aggiungere *acido cloridrico 2 M*; si forma un precipitato bianco.

SAGGI

Dissoluzione. Effettuare il saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide (2.9.3) utilizzando come apparecchio l'agitatore a paletta. Il liquido di dissoluzione è costituito da 900 ml di *acqua R*. La velocità di rotazione è regolata a 50 giri al minuto. Dopo 30 min prelevare 10 ml di liquido che sono diluiti, se necessario, opportunamente con il liquido di dissoluzione. Filtrare, se necessario, e misurare l'assorbanza (2.2.25) a 258 nm. Calcolare la quantità di fenitoina sodica disciolta nel liquido di dissoluzione dal valore dell'assorbanza specifica determinato con una soluzione opportunamente diluita di *fenitoina sodica SCR* nel liquido di dissoluzione. Usare come bianco lo stesso liquido di dissoluzione. La quantità di fenitoina sodica disciolta entro 30 min non deve essere inferiore all'85 per cento della quantità dichiarata.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. In un pallone tarato da 50 ml introdurre una quantità di polvere esattamente pesata e corrispondente a circa 0,200 g di fenitoina sodica, agitare con 35 ml di *sodio idrossido 0,01 M* e diluire a 50 ml con lo stesso solvente. Centrifugare e acidificare 25,0 ml di liquido limpido con 10 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Estrarre con tre porzioni successive, da 50 ml, 40 ml e 25 ml di *etere R*. Lavare gli estratti eteri riuniti con 10 ml di *acqua R*. Evaporare a secco e seccare il residuo a 105 °C. Disciogliere in *piridina anidra R* ed effettuare la determinazione in ambiente non acquoso usando *tetrabuttilammonio idrossido 0,1 M* in presenza di 0,3 ml di una soluzione (3 g/l) di *blu timolo R* in *piridina R*. 1 ml di *tetrabuttilammonio idrossido 0,1 M* equivale a 27,43 mg di $C_{15}H_{12}N_2NaO_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dall'umidità.

Le compresse contengono 100 mg di fenitoina sodica.

FENITOINA SCIROPPO

Lo sciroppo di fenitoina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni liquide per uso orale* (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di fenitoina contiene lo 0,6 per cento *m/V* di *Fenitoina sodica* in adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di fenitoina ($C_{15}H_{12}N_2O_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido sciropposo limpido.

IDENTIFICAZIONE

Estrarre una quantità di preparazione, corrispondente a circa 100 mg di fenitoina, con 50 ml di una miscela di 1 volume di *etere R* e 2 volumi di *cloroformio R* ed evaporare a secco l'estratto. Disciogliere 50 mg del residuo ottenuto in 50 ml di *cloroformio R*, scaldando leggermente se necessario. Aggiungere 0,2 ml di una soluzione (10 g/l) di *cobalto acetato R* in *metanolo R*, preparata di recente, e 1 ml di una soluzione ottenuta diluendo 1 ml di *isopropilammmina R* con 20 ml di *metanolo R*. Dopo agitazione si sviluppa una colorazione rosso-violetta.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Versare in un imbuto separatore una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 200 mg circa di fenitoina, aggiungere 15 ml di *acqua R*, mescolare ed estrarre con 80 ml di una miscela di 1 volume di *etere R* e 2 volumi di *cloroformio R*; raccogliere la fase organica in un imbuto separatore da 500 ml. Completare l'estrazione con due porzioni successive, ciascuna da 40 ml, della miscela organica fino a quando una piccola porzione di estratto non lascia più residuo all'evaporazione. Lavare gli estratti riuniti con due porzioni successive, ciascuna da 10 ml, di una soluzione di *sodio bicarbonato R*. Eliminare le acque di lavaggio e filtrare la fase organica attraverso cotone imbevuto con la miscela di estrazione. Evaporare i solventi in corrente d'aria, seccare sotto vuoto il residuo a 105 °C per 2 h e raffreddare. Disciogliere il residuo in 50 ml di *dimetilformamide R*, aggiungere 3 gocce di una soluzione satura di *azo-violetto R* in *metanolo R* e

titolare con *sodio metossido 0,1 M* fino al viraggio al blu, operando con le necessarie precauzioni per evitare l'assorbimento di anidride carbonica. Effettuare contemporaneamente una prova in bianco.

1 ml di *sodio metossido 0,1 M* equivale a 25,23 mg di $C_{15}H_{12}N_2O_2$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

FENOBARBITAL COMPRESSE

Le compresse di fenobarbital soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse* (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di fenobarbital contengono *Fenobarbital* in adeguati eccipienti.

Contenuto di fenobarbital ($C_{12}H_{12}N_2O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 300 mg di fenobarbital, con tre porzioni successive, ciascuna da 50 ml, di *alcool R* e filtrare. Evaporare gli estratti riuniti a secco e essiccare il residuo a 105 °C per 2 h. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *fenobarbital SCR*.
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g di residuo in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,1 g di *fenobarbital SCR* in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 18 cm usando lo strato inferiore di una miscela di 5 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 15 volumi di *alcool R* e 80 volumi di *clorofornio R*. Esaminare immediatamente alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

- C. Dà la reazione caratteristica dei barbiturici non sostituiti all'azoto (2.3.1).

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). *Effettuare il saggio solo sulle compresse da 20 mg.* Polverizzare finemente una compressa, estrarre con 3 porzioni successive da 50 ml ciascuna di *alcool R* e filtrare. Riunire gli estratti, evaporare a secco e disciogliere il residuo in 5 ml di *piridina R*. Alla soluzione ottenuta aggiungere 5 gocce di *timolftaleina soluzione R* e *argento nitrato soluzione in piridina R*. Titolare con *sodio idrossido 0,02 M* in *alcool R* fino a viraggio al blu.

1 ml di *sodio idrossido 0,02 M* equivale a 2,322 mg di $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

Ripetere l'operazione su altre 9 compresse.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Estrarre una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 100 mg di fenobarbital, con tre porzioni successive ciascuna da 50 ml di *alcool R* e filtrare. Evaporare a secco gli estratti riuniti. Disciogliere il residuo ottenuto in 5 ml di *piridina R*, e aggiungere alla soluzione 5 gocce di *timolftaleina soluzione R* e 10 ml di *argento nitrato soluzione in piridina R*. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M* in *alcool R* fino a viraggio al blu.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 11,61 mg di $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 20 mg, 50 mg o 100 mg di fenobarbital.

FENOBARBITAL SUPPOSTE

Le supposte di fenobarbital soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145).

DEFINIZIONE

Le supposte di fenobarbital contengono *Fenobarbital* in adeguati eccipienti.

Contenuto di fenobarbital ($C_{12}H_{12}N_2O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Supposte omogenee, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Suddividere finemente alcune supposte. Fondere a b.m. una quantità di preparazione, corrispondente a circa 300 mg di fenobarbital, con 100 ml di *alcool R* sotto agitazione. Raffreddare, filtrare ed evaporare il filtrato a secco. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *fenobarbital SCR*.
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g di residuo in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,1 g di *fenobarbital SCR* in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 18 cm usando lo strato inferiore di una miscela di 5 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 15 volumi di *alcool R* e 80 volumi di *clorofornio R*. Esaminare immediatamente alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

- C. Dà la reazione caratteristica dei barbiturici non sostituiti all'azoto (2.3.1).

Fenobarbital sodico preparazione iniettabile

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e suddividere finemente non meno di 20 supposte. Fondere una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a circa 100 mg di fenobarbital, con 100 ml di *alcool R*, raffreddare e filtrare. Lavare il filtro con 20 ml di *alcool R* ed evaporare a secco il filtrato ed il lavaggio riuniti. Disciogliere il residuo in 5 ml di *piridina R*, aggiungere alla soluzione ottenuta 5 gocce di *timolftaleina soluzione R* e 10 ml di *argento nitrato soluzione in piridina R*. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M* in *alcool R* fino a viraggio al blu.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 11,61 mg di $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le supposte contengono 20 mg o 85 mg di fenobarbital.

FENOBARBITAL SODICO LIQUIDO PER USO ORALE

Fenobarbital sodico elisir

Il liquido per uso orale di fenobarbital sodico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Il liquido per uso orale di fenobarbital sodico ha la seguente composizione:

<i>Fenobarbital sodico</i>	5,50	g
<i>Glicerolo</i>	150	g
<i>Saccarosio</i>	125	g
<i>Etanolo 96 per cento</i>	150	g
<i>Acqua depurata q.b. a</i>	1000	ml

Preparazione: sciogliere il *Fenobarbital sodico* nella metà di *Acqua depurata* necessaria, aggiungere il *Glicerolo* e il *Saccarosio*, agitare fino a completa dissoluzione e, continuando a mescolare, aggiungere l'*Etanolo 96 per cento*. Portare a volume con la restante *Acqua depurata* e filtrare.

Contenuto di fenobarbital sodico ($C_{12}H_{11}N_2NaO_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore.

IDENTIFICAZIONE

Acidificare una quantità di preparazione, corrispondente a circa 50 mg di fenobarbital sodico, con 5 ml di *acido cloridrico diluito R* ed estrarre con *etere R*; evaporare a secco a b.m. l'estratto etero e disciogliere il residuo in alcuni ml di *sodio idrossido 1 M*, aggiungere 4 ml di *piridina R* e 1 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R* con *piridina R*; si forma un precipitato rosa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,5 e 8,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Acidificare una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente esattamente a 250 mg circa di fenobarbital sodico, con 10 ml di *acido cloridrico diluito R* ed estrarre con 4 porzioni ciascuna da 20 ml di *etere R*. Lavare gli estratti eteri riuniti con 10 ml di *acqua R* ed estrarre la fase acquosa con altri 20 ml di *etere R*, che si riuniscono ai precedenti estratti. Disidratare i liquidi eteri riuniti su *sodio solfato anidro R*; filtrare ed evaporare a b.m. Seccare il residuo per qualche minuto a 105 °C, riprendere con 50 ml di *dimetilformammide R* e titolare con *sodio metossido 0,1 M*, usando come indicatore una soluzione 10 g/l di *azzurro timolo R* in *dimetilformammide R*.

1 ml di *sodio metossido 0,1 M* equivale a 25,40 mg di $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

FENOBARBITAL SODICO PREPARAZIONE INIETTABILE

Fenobarbital sodico, fiale

La preparazione iniettabile di fenobarbital sodico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di fenobarbital sodico è una soluzione sterile contenente il 3 per cento *m/V* di *Fenobarbital sodico* in una miscela di 9 volumi di *Glicole propilenico* e 1 volume di *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Preparazione: sciogliere il *Fenobarbital sodico* in una miscela di 9 volumi di *Glicole propilenico* ed 1 volume di *Acqua per preparazioni iniettabili*. Riscaldare leggermente, se necessario. Lasciar raffreddare, portare a volume, filtrare, ripartire nelle fiale e sterilizzare in autoclave a 100 °C per 30 min. La soluzione può essere stabilizzata con l'aggiunta di *Sodio edetato* (non più di 0,2 g/l).

Contenuto di fenobarbital sodico ($C_{12}H_{11}N_2NaO_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Diluire un volume di preparazione, corrispondente a circa 300 mg di fenobarbital sodico, con 15 ml di *acqua R*, acidificare con *acido solforico diluito R* e filtrare. Il precipitato, lavato con *acqua R* ed essiccato a 105 °C, fonde (2.2.14) a 175 °C circa e soddisfa alle reazioni di identificazione seguenti:

- A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *fenobarbital SCR*.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 0,1 g di residuo in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,1 g di *fenobarbital SCR* in *alcool R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 18 cm usando lo strato inferiore di una miscela di 5 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 15 volumi di *alcool R* e 80 volumi di *cloroformio R*. Esaminare immediatamente alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

- C. Dà la reazione caratteristica dei barbiturici non sostituiti all'azoto (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 9,0 e 11,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 52,5 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 3 per cento *m/V* di fenobarbital sodico.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a circa 150 mg di fenobarbital sodico, aggiungere 30 ml di *acqua R* e 3 g di *sodio carbonato R* e agitare fino a completa soluzione. Titolare, sempre agitando, con *argento nitrato 0,1 M* fino ad ottenere una torbidità distinguibile su fondo scuro.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 25,42 mg di $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- se usata per via endovenosa diluire la fiala di soluzione iniettabile con non meno di 10 ml di *Acqua per preparazioni iniettabili*.

*La preparazione iniettabile contiene anche il 5 per cento *m/V* di fenobarbital sodico.*

FENOLO GOCCE AURICOLARI

Glicerina fenica

Le gocce auricolari di fenolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni auricolari (0652).

DEFINIZIONE

Le gocce auricolari di fenolo contengono lo 0,85 per cento *m/m* di *Fenolo* in *Glicerolo* all'85 per cento *m/m*.

Contenuto di fenolo (C_6H_6O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Fenolo soluzione cutanea

CARATTERI

Liquido viscoso, limpido, incolore o leggermente rosa pallido, di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione corrispondente a 10 mg circa di fenolo, aggiungere 2 ml di *acqua R* e 0,2 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1*. Si sviluppa una colorazione viola che scompare per aggiunta di 5 ml di *2-propanolo R*.
- B. Ad una quantità di preparazione corrispondente a 10 mg circa di fenolo, aggiungere 2 ml di *acqua R* e 1 ml di *acqua di bromo R*. Si forma un precipitato giallo chiaro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 50 mg circa di fenolo, in una beuta con tappo a smeriglio ed aggiungere 20 ml di *acqua R*, 50 ml di *bromuro-bromato 0,0167 M* e 5 ml di *acido cloridrico R*. Tappare la beuta, lasciare a riposo agitando di tanto in tanto, per 30 min e quindi lasciare a riposo per ulteriori 15 min. Aggiungere 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R*, agitare e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* fino ad ottenere un colore giallo pallido. Aggiungere 0,5 ml di *amido soluzione R* e 10 ml di *cloroformio R* e continuare la titolazione agitando energicamente. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *bromuro-bromato 0,0167 M* equivale a 1,569 mg di C_6H_6O .

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

FENOLO SOLUZIONE CUTANEA

La soluzione cutanea di fenolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di fenolo contiene l'1 per cento m/m di *Fenolo in Acqua depurata*.

Contenuto di fenolo (C_6H_6O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore appena preparato, si colora in rosso per esposizione all'aria e alla luce; di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 10 mg circa di fenolo, aggiungere 4 ml di *acqua R* e 0,1 ml di *ferro(-ico) soluzione R1*. Si sviluppa una colorazione viola che scompare per aggiunta di 5 ml di *2-propanolo R*.
- B. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 10 mg circa di fenolo, aggiungere 4 ml di *acqua R* e 1 ml di *acqua di bromo R*. Si forma un precipitato giallo chiaro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg circa di fenolo, a 50,0 ml con *acqua R*. Trasferire 25,0 ml della soluzione ottenuta in una beuta con tappo a smeriglio e aggiungere 50,0 ml di *bromuro-bromato 0,0167 M* e 5 ml di *acido cloridrico R*. Tappare la beuta, lasciare a riposo, agitando di tanto in tanto, per 30 min e quindi lasciare a riposo per ulteriori 15 min. Aggiungere 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R*, agitare e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* fino ad ottenere un colore giallo pallido. Aggiungere 0,5 ml di *amido soluzione R* e 10 ml di *diclorometano R* e continuare la titolazione agitando energicamente. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *bromuro-bromato 0,0167 M* equivale a 1,569 mg di C_6H_6O .

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, di vetro scuro, protetto dalla luce.

FENOLSULFONFTALEINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Fenolsulfonftaleina fiale

La preparazione iniettabile di fenolsulfonftaleina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di fenolsulfonftaleina è una soluzione sterile avente la seguente composizione per fiala:

Fenolsulfonftaleina	6	mg
Sodio cloruro	9	mg
Sodio bicarbonato	1,43	mg
Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a	1	ml

Preparazione: in un matraccio da 1 litro introdurre la Fenolsulfonftaleina, 100 ml di Acqua per preparazioni iniettabili e, a piccole porzioni e sotto continua agitazione, il Sodio bicarbonato. Aggiungere il Sodio cloruro e portare ad ebollizione fino a quando il volume della soluzione è ridotto a 70 ml circa. Diluire a 1000 ml, filtrare, ripartire in fiale da 1 ml e sterilizzare in autoclave.

Contenuto di fenolsulfonftaleina ($C_{19}H_{14}O_5S$): non meno del 90,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida colorata in rosso-violaceo.

IDENTIFICAZIONE

- Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 6 mg circa di fenolsulfonftaleina, aggiungere, agitando, 0,1 ml di bromo 0,1 M e 0,1 ml di acido cloridrico diluito R. Agitare, lasciare a riposo per 15 min e alcalinizzare con sodio idrossido soluzione diluita R: si forma una colorazione blu-violetta.
- La soluzione, per aggiunta di alcali, assume una colorazione rossa intensa che vira all'arancio ed al giallo in presenza di acidi e che scompare, per riscaldamento, dopo aggiunta di zinco polvere R.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,0 e 7,5.

Endotossine batteriche. Non più di 333,4 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,6 per cento *m/V* di fenolsulfonftaleina.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire la preparazione in esame con una soluzione (10 g/l) di sodio carbonato anidro R fino ad ottenere una concentrazione di circa 3 µg/ml di fenolsulfonftaleina. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 559 nm usando come bianco lo stesso solvente.

Calcolare il contenuto di $C_{19}H_{14}O_5S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 2030.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

FENOSSIMETILPENICILLINA COMPRESSE

Le compresse di fenossimetilpenicillina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di fenossimetilpenicillina contengono Fenossimetilpenicillina potassica in adeguati eccipienti.

Contenuto di fenossimetilpenicillina ($C_{16}H_{18}N_2O_5S$): non meno del 93,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- Ad una quantità di polvere corrispondente a 90 mg circa di fenossimetilpenicillina potassica aggiungere 400 ml di acqua R ed agitare; diluire a 500 ml con acqua R, agitare e filtrare. La soluzione ottenuta, esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25), mostra due massimi di assorbimento a 268 nm e 274 nm ed un minimo a 272 nm.

Fenossimetilpenicillina granulato per soluzione orale

- B. Ad una quantità di polvere corrispondente a 10 mg di fenossimetilpenicillina potassica aggiungere 10 ml di *acqua R* e 0,5 ml di *rosso neutro soluzione R*. Aggiungere *sodio idrossido 0,01 M* fino al viraggio persistente all'arancione e 1,0 ml di *penicillasi soluzione R*; il colore vira rapidamente al rosso.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 100 mg di fenossimetilpenicillina potassica, aggiungere 80 ml di *acqua R*, agitare per 5 min, diluire a 100 ml con *acqua R* e filtrare. A 10 ml del filtrato aggiungere 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e lasciare a riposo per 20 min. Aggiungere poi 20 ml di una soluzione, preparata di recente, contenente 54,4 g/l di *sodio acetato R* e 24 g/l di *acido acetico glaciale R*, 5 ml di *acido cloridrico 1 M* e 25 ml di *iodio 0,1 M*. Lasciare a riposo, al riparo dalla luce per 20 min e titolare l'eccesso di iodio con *sodio tiosolfato 0,1 M* in presenza di *amido soluzione R*. Ad altri 10 ml del filtrato aggiungere 20 ml della miscela descritta sopra e 25 ml di *iodio 0,1 M*. Lasciare a riposo per 20 min e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* in presenza di *amido soluzione R*. La differenza tra le due titolazioni rappresenta la quantità di iodio equivalente alle penicilline totali. Determinare la quantità di fenossimetilpenicillina corrispondente a 1 ml di *iodio 0,1 M* utilizzando *fenossimetilpenicillina potassica SCR*.

1 mg di *fenossimetilpenicillina potassica SCR* equivale a 0,9019 mg di penicilline totali calcolate come $C_{16}H_{18}N_2O_5S$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di fenossimetilpenicillina.

Le compresse contengono 125 mg o 500 mg di fenossimetilpenicillina.

FENOSSIMETILPENICILLINA GRANULATO PER SOLUZIONE ORALE

Il granulato per soluzione orale di fenossimetilpenicillina soddisfa anche ai requisiti definiti nelle monografie Granulati (0499) e Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Il granulato per soluzione orale di fenossimetilpenicillina contiene *Fenossimetilpenicillina potassica* in adeguati eccipienti.

CARATTERI

Polvere o granulato omogeneo di dimensioni variabili.

Preparazione della soluzione: al granulato contenuto nel flacone aggiungere acqua fino al segno riportato sul flacone stesso. Chiudere il flacone, agitare energicamente fino alla formazione di una soluzione.

Contenuto di fenossimetilpenicillina ($C_{16}H_{18}N_2O_5S$) nella soluzione ricostituita di recente: non meno del 90,0 per cento e non più del 120,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare la preparazione, prelevare un volume di soluzione corrispondente a 25 mg circa di fenossimetilpenicillina potassica e diluire a 10 ml con *tampone soluzione a pH 6,6 R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di *fenossimetilpenicillina potassica SCR* in 10 ml di *tampone soluzione a pH 6,6 R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 80 volumi di *cloroformio R*, 15 volumi di *acido formico R* e 5 volumi di *metanolo R*. Asciugare all'aria e spruzzare con una soluzione (1,5 g/l) di *potassio permanganato R* in *acido solforico 1 M*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Acqua (2.5.12). Non superiore all'1,0 per cento, determinata su 0,500 g di granulato con metodo semimicro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Prodotti di degradazione. Ad una quantità esattamente misurata di soluzione ottenuta secondo le istruzioni d'uso, corrispondente a 0,250 g di fenossimetilpenicillina, aggiungere 25 ml di *acqua R*. Agitare per 3 min ed aggiungere 25 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento.

Calcolare il contenuto, in milligrammi per millilitro, dei prodotti di degradazione (*D*), espressi come $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, mediante l'espressione:

$$\frac{7,330 n}{v}$$

v = quantità di soluzione in millilitri,

n = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati.

Fenossimetilpenicillina. Ad una quantità esattamente misurata di soluzione, ottenuta secondo le istruzioni d'uso, corrispondente a 50,0 mg di fenossimetilpenicillina, aggiungere 3 ml di *acqua R*. Agitare per 3 min, aggiungere 5,0 ml di *sodio idrossido 1 M*, lasciare a riposo per 15 min ed aggiungere quindi 5,0 ml di *acido nitrico 1 M*, 25 ml di *tampone acetato soluzione a pH 4,6 R* e 25 ml di *acqua R*. Titolare immediatamente con *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* e determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un elettrodo di platino o di mercurio come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) solfato come elettrodo di riferimento. Effettuare la titolazione entro 15 min.

Calcolare il contenuto in percentuale di $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ mediante l'espressione:

$$\frac{7,330 n_1}{v_1} - D$$

*v*₁ = quantità di soluzione in millilitri,

*n*₁ = numero dei millilitri di *mercurio(-ico) nitrato 0,02 M* utilizzati,

D = contenuto, in mg per ml, dei prodotti di degradazione.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di fenossimetilpenicillina,

Il granulato per soluzione orale contiene fenossimetilpenicillina potassica corrispondente al 3,75 per cento m/m di fenossimetilpenicillina.

La soluzione orale, preparata secondo le istruzioni, contiene il 2,5 per cento m/V di fenossimetilpenicillina.

FERROSO SOLFATO COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse di ferroso solfato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di ferroso solfato contengono *Ferroso solfato* essiccato in adeguati eccipienti.

Contenuto di ferroso solfato ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 500 mg circa di ferroso solfato, aggiungere 10 ml di *acqua R*, agitare per alcuni minuti e filtrare.

- Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).
- Il filtrato dà la reazione caratteristica (a) del ferro (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 500 mg di ferroso solfato, aggiungere 30 ml di *acqua R* e 20 ml di *acido solforico diluito R* e

Fisostigmina preparazione iniettabile

agitare. Aggiungere 0,1 ml di *ferroina R* e titolare con *ammonio e cerio nitrato 0,1 M* fino a scomparsa del colore rosso.

1 ml di *ammonio e cerio nitrato 0,1 M* equivale a 27,80 mg di $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto in termini di quantità equivalente di ferroso solfato anidro.

Le compresse contengono 200 mg di solfato ferroso essiccato pari a 365 mg di ferroso solfato ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

FISOSTIGMINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Fisostigmina salicilato fiale
Eserina fiale

La preparazione iniettabile di fisostigmina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di fisostigmina è una soluzione sterile avente la seguente composizione:

<i>Fisostigmina salicilato</i>	1,0	g
<i>Acido benzoico (50 g/l) in Etanolo 96 per cento</i>	30	ml
<i>Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a</i>	1000	ml

Contiene un adeguato antiossidante.

Preparazione: disciogliere in 900 ml circa di *Acqua per preparazioni iniettabili* l'eventuale antiossidante, la soluzione di *Acido benzoico* e la *Fisostigmina salicilato*. Portare a volume con *Acqua per preparazioni iniettabili*, filtrare e ripartire in fiale da 1 ml. Sterilizzare a vapore fluente per 30 min.

Contenuto di fisostigmina salicilato ($\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione corrispondente ad 1 mg circa di fisostigmina salicilato, aggiungere 5 ml di *acqua R* e alcune gocce di *sodio idrossido 0,1 M*; si forma una colorazione rosa che, col tempo, si intensifica.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *fisostigmina salicilato SCR* in *alcool R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 20 μl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 2 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 23 volumi di *2-propanolo R* e 100 volumi di *cicloesano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R* preparata di recente e quindi con *idrogeno perossido soluzione diluita R*. Esaminare la lastra entro 2 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,0 e 6,0.

Endotossine batteriche. Non più di 83,4 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,1 per cento *m/V* di fisostigmina salicilato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare il contenuto di alcune fiale. Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 20 mg circa di fisostigmina salicilato, aggiungere 0,25 g di *sodio bicarbonato R* ed estrarre con sei porzioni successive ciascuna da 15 ml di *cloroformio R*. Seccare gli estratti cloroformici riuniti su *sodio solfato anidro R* e filtrare quantitativamente. Aggiungere 25 ml di *acido acetico glaciale R*. Titolare con *acido perclorico 0,01 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,01 M* equivale a 4,135 mg di $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la soluzione non deve essere utilizzata se è leggermente opalescente.

FLUORESCEINA COLLIRIO SOLUZIONE

Fluoresceina sodica soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di fluoresceina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di fluoresceina contiene *Fluoresceina sodica* in soluzione isotonica sterile.

Contenuto di fluoresceina sodica ($C_{20}H_{10}Na_2O_5$): non meno del 80,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida con forte fluorescenza verde-giallastra.

IDENTIFICAZIONE

- Diluire una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 10 mg circa di fluoresceina sodica, a 20 ml con *acqua R*. Una goccia, deposta su carta da filtro, forma una macchia gialla che, esposta ai vapori di *bromo R* per 1 min e quindi ai vapori di *ammoniaca R*, vira al rosa.
- La soluzione acquosa è fluorescente anche ad estreme diluizioni; acidificata, perde la fluorescenza, che riappare in ambiente alcalino.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,5 e 8,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a circa 50 mg di fluoresceina sodica, aggiungere 15 ml di *acido cloridrico diluito R1* ed estrarre con quattro porzioni, da 20 ml ciascuna, di una miscela di 1 volume di *2-metilpropanolo R* e 1 volume di *cloroformio R*. Lavare gli estratti riuniti

con 10 ml di *acqua R* ed estrarre quindi quest'ultima con 5 ml della miscela di 1 volume di *2-metilpropanolo R* e 1 volume di *cloroformio R*. Evaporare gli estratti a secco, a b.m. e in corrente d'aria. Disciogliere il residuo in 10 ml di *alcool R*. Evaporare a secco la soluzione alcoolica ed essiccare il residuo in stufa a 105 °C fino a massa costante. Calcolare il contenuto di $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ tenendo conto della quantità di preparazione presa in esame e della massa del residuo determinato.

1 g di residuo equivale a 1,13 g di $C_{20}H_{10}Na_2O_5$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce, o in confezione idonea per la somministrazione in dose unica.

Il collirio contiene lo 0,5 per cento m/V o l'1 per cento m/V di fluoresceina sodica.

FRUTTOSIO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa di fruttosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di fruttosio è una soluzione sterile ed apirogena contenente *Fruttosio* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di fruttosio ($C_6H_{12}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità prescritta o indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di fruttosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di fruttosio SCR, 10 mg di glucosio SCR, 10 mg di lattosio SCR e 10 mg di saccarosio SCR in una miscela di 2 volumi di acqua R e 3 volumi di metanolo R e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di acqua R, 15 volumi di metanolo R, 25 volumi di acido acetico anidro R e 50 volumi di dicloroetano R. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in una corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di timolo R in una miscela di 5 ml di acido solforico R e 95 ml di alcool R. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

- B. Mescolare un volume di soluzione, equivalente a 0,1 g di fruttosio, con 10 ml di acqua R. Aggiungere 3 ml di cupri-tartarica soluzione R e scaldare. Si forma un precipitato rosso.
- C. La soluzione preparata per la determinazione quantitativa osservata al polarimetro è levogira.

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire la soluzione fino ad una concentrazione non superiore al 5 per cento con acqua esente da anidride carbonica R. Il pH è compreso tra 3,5 e 5,5.

5-idrossimetilfurfurale e sostanze correlate. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 2,0 g di fruttosio, a 1000,0 ml con acqua R. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,50.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I./ml per la soluzione al 5 per cento *m/V*. Prima della determinazione diluire le soluzioni a concentrazione superiore al 5 per cento *m/V*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 5 g di fruttosio, aggiungere 0,2 ml di ammoniaca diluita R1 ed acqua R fino a 100,0 ml. Mescolare, lasciare a riposo per 30 min e determinare il potere rotatorio (2.2.7) in un tubo da 2 dm. L'angolo di rotazione letto, moltiplicato per 0,5420 rappresenta la massa in grammi di fruttosio (C₆H₁₂O₆) contenuto nel volume di soluzione in esame.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- per le soluzioni con concentrazioni superiori al 5 per cento "Soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione".

La soluzione contiene 50 g/l, 100 g/l o 200 g/l di fruttosio.

FTALILSULFATIAZOLO COMPRESSE

Le compresse di ftalilsulfatiazolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di ftalilsulfatiazolo contengono *Ftalilsulfatiazolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di ftalilsulfatiazolo (C₁₇H₁₃N₃O₅S₂): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Lavare una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a circa 500 mg di ftalilsulfatiazolo, con due porzioni ciascuna da 5 ml di cloroformio R scartando ogni volta il solvente. Aggiungere al residuo 10 ml di ammoniaca diluita R1, agitare per 5 min, aggiungere 10 ml di acqua R e filtrare. Scaldare il filtrato fino ad eliminazione dei vapori ammoniacali, raffreddare e aggiungere acido acetico R fino a reazione nettamente

acida. Il precipitato, lavato con acqua fredda ed essiccato tra 100 °C e 105 °C soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione.

- A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *ftalilsulfatiazolo SCR*.
- B. A 0,1 g aggiungere, in una provetta, 3 ml di *acido solforico diluito R* e 0,5 g di *zinco polvere R*. Si sviluppano vapori che anneriscono la *piombo acetato cartina R*.
- C. A 0,1 g aggiungere 0,5 g di *resorcinolo R* e 0,3 ml di *acido solforico R* e scaldare a b.m. fino ad ottenere una miscela omogenea. Lasciar raffreddare. Aggiungere 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Diluire 0,1 ml di questa miscela rosso-brunstra a 25 ml con *acqua R*. Appare una intensa fluorescenza verde che scompare per acidificazione.

SAGGI

Sulfatiazolo ed altre ammine aromatiche primarie. Ad una quantità di compresse polverizzate, esattamente pesata e corrispondente a 25 mg di *ftalilsulfatiazolo*, aggiungere due porzioni, ciascuna da 25 ml di *alcool R*, agitare per alcuni minuti, filtrare, riunire gli estratti e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. A 20,0 ml aggiungere 5 ml di *alcool R*, 3,5 ml di *acqua R* e 6 ml di *acido cloridrico diluito R*. Porre immediatamente in acqua ghiacciata e aggiungere 1 ml di una soluzione (2,5 g/l) di *sodio nitrito R*. Lasciare a riposo per 3 min, aggiungere 2,5 ml di una soluzione (40 g/l) di *acido solfammico R* e lasciare a riposo per 5 min. Aggiungere 1 ml di una soluzione (4 g/l) di *naftiletilediammina dicloridrato R* e diluire a 50 ml con *acqua R*. L'assorbanza (2.2.25), misurata a 550 nm, non è maggiore di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nelle stesse condizioni con 25 ml di *alcool R*, 2,5 ml di *acqua R*, 6 ml di *acido cloridrico diluito R* e 1 ml di una soluzione contenente, in 100 ml, 10 mg di *sulfatiazolo R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 800 mg di *ftalilsulfatiazolo*, aggiungere 20 ml di *acido cloridrico diluito R* e scaldare a ricadere per 1 h. Raffreddare, aggiungere 50 ml di *acqua R* ed eseguire la determinazione dell'azoto amminico primario aromatico (2.5.8) titolando lentamente con *sodio nitrito 0,1 M*.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 40,34 mg di $C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di ftalilsulfatiazolo.

FUROSEMIDE COMPRESSE

Le compresse di furosemide soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di furosemide contengono *Furosemide* in adeguati eccipienti.

Contenuto di furosemide ($C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo della luce.

- A. Agitare una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 125 mg circa di furosemide, con tre porzioni da 10 ml ciascuna di *metanolo R*. Evaporare 15 ml e cristallizzare il residuo da *alcool al 50 per cento V/V R*. I cristalli, essiccati, fondono a 206 °C con decomposizione.
- B. La soluzione, preparata come descritto alla Determinazione quantitativa, esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25) mostra due massimi di assorbimento a 228 nm e 271 nm circa.

SAGGI

Operare al riparo dalla luce.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 40 mg circa di furosemide, aggiungere 10 ml di *acetone R* e agitare per 10 min. Filtrare e portare a secco. Disciogliere il residuo in 2 ml di *acetone R*.

Furosemide preparazione iniettabile

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di furosemide impurezza C SCR con acetone R e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 12 cm circa usando una miscela di 1 volume di toluene R, 1 volume di xilene R, 3 volumi di diossano R, 3 volumi di alcool isopropilico R e 2 volumi di ammoniaca concentrata R. Asciugare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Dissoluzione. Effettuare il saggio di dissoluzione delle forme farmaceutiche solide (2.9.3) utilizzando come apparecchio l'agitatore a paletta. Il liquido di dissoluzione è costituito da 900 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 5,8 R*. La velocità di rotazione è regolata a 50 giri al minuto. Dopo 30 min prelevare 10 ml di liquido e diluire opportunamente, se necessario, con il liquido di dissoluzione; dopo eventuale filtrazione misurare l'assorbanza (2.2.25) a 274 nm. Calcolare la quantità di furosemide disciolta nel liquido di dissoluzione dal valore dell'assorbanza specifica, determinato su una soluzione di *furosemide SCR* opportunamente diluita nello stesso liquido di dissoluzione. Usare questo come bianco. Non meno del 65 per cento della quantità dichiarata deve sciogliersi entro 45 min.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 40 mg circa di furosemide, aggiungere 60 ml di *sodio idrossido 0,1 M*, agitare e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml a 500,0 ml con *sodio idrossido 0,1 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 271 nm usando come riferimento *sodio idrossido 0,1 M*. Calcolare il contenuto di $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 580.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 25 mg di furosemide.

FUROSEMIDE PREPARAZIONE INIETTABILE

Furosemide fiale

La preparazione iniettabile di furosemide soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di furosemide è una soluzione sterile e apirogena di *Furosemide* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di furosemide ($C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o pressoché incolore.

IDENTIFICAZIONE

La soluzione preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 200 nm e 400 nm (2.2.25) mostra tre massimi di assorbimento, rispettivamente a 228 nm, a 271 nm e a 333 nm circa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 8,0 e 9,3.

Endotossine batteriche. Non più di 36 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione all'1 per cento *m/V* di furosemide.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a 40 mg circa di furosemide, a 100 ml con *acqua R*. Diluire 2,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *sodio idrossido 0,02 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 271 nm usando come riferimento *sodio idrossido 0,02 M*. Calcolare il contenuto di $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 580.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La soluzione contiene l'1 per cento m/V di furosemide.

GEL BASE PER PREPARAZIONE SEMISOLIDA PER APPLICAZIONE CUTANEA

Il gel base per preparazione semisolido per applicazione cutanea soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolido per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

Il gel base per preparazione semisolido per applicazione cutanea ha la seguente composizione:

<i>Carmellosa sodica</i>	5 g
<i>Glicerolo 85 per cento</i>	10 g
<i>Acqua depurata</i> q.b. a	100 g

La *Carmellosa sodica* può essere sostituita da 2,5 g di *Idrossietilcellulosa*.

Preparazione: stemperare la *Carmellosa sodica* o l'*Idrossietilcellulosa* con il *Glicerolo 85 per cento*, quindi, aggiungere l'*Acqua depurata*, bollita di recente e raffreddata a temperatura ambiente, agitando cautamente per non inglobare aria, sino a dispersione completa priva di grumi. Lasciare a riposo almeno 1 h per la formazione del gel.

CARATTERI

Gel trasparente, omogeneo, versabile con difficoltà.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce e dal calore.

GENTAMICINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Gentamicina solfato fiale

La preparazione iniettabile di gentamicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di gentamicina è una soluzione sterile di *Gentamicina solfato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Può contenere idonei stabilizzanti. Se destinata all'uso intratecale può contenere solo un idoneo isotonicizzante.

CARATTERI

Soluzione limpida e incolore o leggermente giallognola.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando una *lastra di gel di silice G per cromatografia su strato sottile R*.

Soluzione in esame. Diluire una quantità di soluzione corrispondente a 0,100 g circa di gentamicina con un volume uguale di *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,200 g di *gentamicina solfato SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando lo strato inferiore di una miscela di volumi uguali di *cloroformio R*, *metanolo R* e di una soluzione di *ammoniaca concentrata R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria, spruzzare con *ninidrina soluzione R1* e scaldare a 110 °C per 5 min. Le tre macchie principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili, per posizione e colore, alle tre macchie principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio Composizione. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta quattro picchi principali che hanno gli stessi tempi di ritenzione dei quattro picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 5,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 33,33 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 2 per cento *m/V* di gentamicina (per uso intramuscolare) e non più di 36,36 U.I. di endotossine per ml di soluzione al 2 per cento *m/V* per uso intratecale.

Composizione. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Diluire un adatto volume di preparazione con *acqua R* fino ad ottenere una concentrazione pari a 1 mg/ml di gentamicina solfato. A 10,0 ml di questa soluzione aggiungere 5 ml di *metanolo R* e 4 ml di *aldeide ftalica reattivo R*. Mescolare e diluire a 25,0 ml con *metanolo R*. Scaldare a b.m. a 60 °C per 15 min e raffreddare a temperatura ambiente. Se la soluzione non è usata immediatamente raffreddare a 0 °C ed usare entro 4 h.

Soluzione di riferimento. Preparare nel modo descritto per la soluzione in esame usando 0,100 g di *gentamicina solfato SCR* invece della sostanza in esame.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,10-0,125 m e con diametro interno di 4,6-5 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,5 ml per minuto, una soluzione contenente 5,5 g di *sodio eptansolfonato R* in una miscela di 50 ml di *acido acetico glaciale R*, 250 ml di *acqua R* e 700 ml di *metanolo R1*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 330 nm.

Quando i cromatogrammi sono registrati nelle condizioni prescritte, il tempo di ritenzione del componente C_2 è compreso tra 10 min e 20 min e ci sono picchi ben separati con tempi di ritenzione relativi di circa 0,13 (reattivo), 0,27 (componente C_1), 0,65 (componente C_{1a}), 0,85 (componente C_{2a}) e 1,00 (componente C_2).

Iniettare 5 µl della soluzione di riferimento.

Il sistema è idoneo solo se la risoluzione (2.2.29) tra i picchi corrispondenti ai componenti C_{2a} e C_2 è per lo meno 1,3. Se necessario aggiustare il contenuto di metanolo nella fase mobile per ottenere tale risoluzione.

Iniettare 5 µl della soluzione di riferimento. Misurare l'altezza del picco al di sopra di questa linea di base per ciascun componente.

Calcolare il fattore di risposta R_x di ciascun componente mediante l'espressione:

$$R_x = \frac{H_x}{F_x}$$

dove:

F_x = rapporto del componente designato C_x nella *gentamicina solfato SCR*,

H_x = altezza del picco del componente C_x nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Iniettare 5 µl della soluzione in esame. Misurare l'altezza del picco al di sopra di questa linea di base per ciascun picco. Calcolare le proporzioni relative dei componenti C_1 , C_{1a} , C_2 e C_{2a} nella sostanza in esame mediante l'espressione:

$$C_x \text{ (percentuale)} = \frac{\frac{H'_x}{R_x}}{\frac{H'_1}{R'_1} + \frac{H'_{1a}}{R'_{1a}} + \frac{H'_{2a}}{R'_{2a}} + \frac{H'_2}{R'_2}} \times 100$$

dove:

H'_x = altezza del picco del componente C_x nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame.

Le proporzioni relative sono comprese entro i limiti seguenti: C_1 dal 25,0 per cento al 50,0 per cento; C_{1a} dal 10,0 per cento al 35,0 per cento; C_2 più C_{2a} dal 25,0 per cento al 55,0 per cento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Effettuare la titolazione microbiologica degli antibiotici (2.7.2). La precisione della determinazione quantitativa è tale che i limiti fiduciali di errore sono non meno del 95 per cento e non più del 105 per cento della attività biologica stimata.

Calcolare il contenuto di gentamicina nella preparazione iniettabile considerando 1000 U.I. trovate come equivalenti a 1 mg di gentamicina.

Il limite fiduciale superiore dell'errore non è inferiore al 97,0 per cento ed il limite fiduciale inferiore non è superiore al 110,0 per cento del contenuto dichiarato.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- se del caso, che la preparazione è indicata per l'uso intratecale,
- che la preparazione deve essere diluita, prima della somministrazione, ad una concentrazione non superiore allo 0,1 per cento m/V .

La preparazione può contenere gentamicina solfato corrispondente al 2,0 per cento m/V o al 4,0 per cento m/V di gentamicina.

GLICEROLO GEL

Amido glicerolato

Il gel di glicerolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

Il gel di glicerolo contiene il 70 per cento di *Glicerolo* ed il 10 per cento di *Amido di frumento* in *Acqua depurata*.

Preparazione: sospendere l'*Amido di frumento* nell'*Acqua depurata*, aggiungere lentamente agitando il *Glicerolo*, previamente riscaldato, portare su bagno di sabbia continuando a mescolare fino ad ottenere un gel traslucido.

Contenuto di glicerolo ($C_3H_8O_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Gel traslucido bianco, omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

- A. Disperdere alcuni grammi della preparazione in 10-15 ml di *acqua R* ed aggiungere una o due gocce di *iodio soluzione R*: si sviluppa una colorazione blu-violetta.
- B. Riscaldare alcuni grammi della preparazione con *potassio idrogeno solfato R*: si svolgono vapori di acroleina che anneriscono una cartina impregnata con *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare esattamente una quantità di preparazione, corrispondente a 5 g circa di glicerolo, aggiungere *acqua R* riscaldando se necessario; raffreddare e diluire a 1000 ml con *acqua R*. In una beuta trasferire 20,0 ml della soluzione appena preparata aggiungere 45 ml di *acqua R* e 25,0 ml di una soluzione (21,4 g/l) di *sodio periodato R*. Lasciare a riposo al riparo dalla luce per 15 min. Aggiungere 5,0 ml di una soluzione (500 g/l) di *glicole etilenico R* e lasciare a riposo al riparo dalla luce per 20 min. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R*. Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 9,21 mg di $C_3H_8O_3$.

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso, al riparo dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso:

- il nome di ogni conservante aggiunto.

GLICEROLO SOLUZIONE RETTALE

Glicerina microclismi

La soluzione rettale di glicerolo soddisfa ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145).

DEFINIZIONE

La soluzione rettale di glicerolo contiene il 70 per cento *m/m* di *Glicerolo 85 per cento* in adeguato eccipiente.

Contenuto di glicerolo ($C_3H_8O_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido denso, lievemente opalescente, da incolore a lievemente giallastro.

IDENTIFICAZIONE

Scaldare in una capsula circa 1 ml di preparazione con 2 g di *potassio idrogeno solfato R*: si sviluppano vapori irritanti e lacrimogeni che anneriscono una cartina impregnata con *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH è compreso fra 5,0 e 7,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare esattamente una quantità di preparazione corrispondente a 5 g circa di glicerolo, diluire a 250,0 ml con *acqua R* ed omogeneizzare. Trasferire 5,0 ml della soluzione appena preparata in una beuta, aggiungere 45 ml di *acqua R* e 25,0 ml di una soluzione (21,4 g/l) di *sodio periodato R*. Lasciare a riposo al riparo dalla luce per 15 min. Aggiungere 5,0 ml di una soluzione (500 g/l) di *glicole etilenico R* e lasciare a riposo al riparo dalla luce per 20 min. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R*. Effettuare una titolazione in bianco. 1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 9,21 mg di $C_3H_8O_3$.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce e dal calore.

GLICEROLO SUPPOSTE

Glicerina supposte

Le supposte di glicerolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145)

DEFINIZIONE

Le supposte di glicerolo contengono *Glicerolo* in adeguati eccipienti.

Preparazione: possono essere preparate come segue: scaldare a debole fiamma il *Glicerolo*, aggiungere, agitando lentamente, gli eccipienti (stearato di sodio e carbonato di sodio) fino a dissoluzione.

Contenuto di glicerolo ($C_3H_8O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Supposte omogenee, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- Scaldare in una capsula 1 g circa di preparazione con 2 g di *potassio idrogeno solfato R*: si sviluppano vapori irritanti e lacrimogeni che anneriscono una cartina impregnata con *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*.
- Disciogliere 1 g di *sodio borato R* in 100 ml di *acqua R*; aggiungere 25 gocce di *fenoltaleina R* (1 per cento in *etanolo R*) e miscelare. Trasferire in una provetta 0,5 ml della soluzione ottenuta e aggiungere 2 gocce di una supposta previamente fusa. La soluzione inizialmente rosa, diventa incolore; la colorazione riappare quando la soluzione viene riscaldata.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Trasferire in un matraccio tarato da 250 ml, una quantità esattamente pesata di supposta e corrispondente a 250 mg di glicerolo. Portare a volume con *acqua R* e scaldare, sotto costante agitazione, fino a completa dissoluzione. A 5 ml della soluzione, trasferiti in un matraccio tarato da 250 ml, aggiungere 50 ml di una miscela di 20 ml di *acido solforico soluzione diluita R* (1:20) e 30 ml di una soluzione di *potassio periodato R* (1:1000) acidificata con 3-5 gocce di *acido solforico R*. Scaldare la soluzione a b.m. per 15 min e poi lasciar raffreddare a temperatura ambiente. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R*, lasciare a riposo per 5 min quindi titolare con *sodio tiosolfato 0,02 M*, aggiungendo 3 ml

di *amido soluzione R* in prossimità del punto di viraggio. Effettuare una titolazione in bianco nelle stesse condizioni utilizzate per il campione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,02 M* equivale a 0,4604 mg di $C_3H_8O_3$.

Il quantitativo, in milligrammi, di glicerolo per supposta, si determina secondo la seguente formula:

$$\frac{ml_B - ml_C \times 50 \times m.m.supp. \times 0,4604}{P}$$

ml_B = millilitri utilizzati per la titolazione in bianco,

ml_C = millilitri utilizzati per la titolazione del campione,

m.m.supp. = massa media delle supposte, espressa in milligrammi,

P = quantità, in milligrammi, di massa delle supposte utilizzate.

GLICEROLO CON SODIO CLORURO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa di glicerolo con sodio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di glicerolo con sodio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 10 per cento *m/V* di *Glicerolo* e lo 0,9 per cento *m/V* di *Sodio cloruro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di glicerolo ($C_3H_8O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio cloruro (NaCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).

B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

- C. A 5 ml di soluzione aggiungere 0,5 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R* e 0,5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*: si sviluppa una colorazione blu intensa che persiste con il riscaldamento.
- D. Riscaldare in una capsula, fino a consistenza sciropposa, un volume della soluzione equivalente a 1 g circa di glicerolo. L'aggiunta di *potassio disolfato R*, per ulteriore riscaldamento, provoca lo sviluppo di vapori irritanti e lacrimogeni che anneriscono una cartina imbevuta di *potassio iodomercurato soluzione alcalina R*.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,5 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Cloruri. Diluire un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 0,25 g di sodio cloruro, a circa 50 ml con *acqua R*. Aggiungere 5,0 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *butile ftalato R*. Agitare e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* in presenza di 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* fino a che il colore vira al giallo-rossastro.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Glicerolo. Ad 1 ml di soluzione aggiungere 50 ml di *sodio periodato 0,05 M*. Dopo 15 min aggiungere 5 ml di una soluzione al 50 per cento V/V di *glicole etilenico R* in *acqua R* e titolare con *sodio idrossido 0,1 M* in presenza di *fenolftaleina soluzione R*. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 9,21 mg di C₃H₈O₃.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione.

GLICEROLO UNGUENTO

Glicerina unguento

L'unguento di glicerolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento può avere le seguenti composizioni:

<i>Glicerolo 85 per cento</i>	15 g	20 g
<i>Alcooli di lanolina unguento base</i>	55 g	60 g
<i>Acqua depurata</i>	30 g	20 g

Preparazione: unire l'*Acqua depurata*, bollita di recente, e raffreddata, al *Glicerolo 85 per cento*. Aggiungere la soluzione ottenuta, a piccole porzioni, all'unguento base, precedentemente riscaldato a calore mite, mescolando sino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Unguento bianco, omogeneo, untuoso.

IDENTIFICAZIONE

- A. Scaldare in capsula 7 g di preparazione con 2 g di *potassio idrogeno solfato R*. Si sviluppano vapori di acroleina, irritanti e lacrimogeni, che anneriscono una cartina imbevuta di *potassio tetraiodomercurato soluzione alcalina R*.
- B. A 10 g di preparazione, posti in becher, aggiungere successivamente ed agitando con bacchetta di vetro, 10 ml di *acqua R*, 5 ml di una soluzione (75 g/l) di *potassio dicromato R* e 25 ml di una miscela (1:1) di *acqua R* e *acido solforico R*. Si sviluppa una colorazione verde-azzurra.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

GLICINA SOLUZIONE PER IRRIGAZIONE

La soluzione per irrigazione di glicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni per irrigazione (1116)*.

DEFINIZIONE

La soluzione per irrigazione di glicina è una soluzione sterile ed apirogena contenente l'1,5 per cento *m/V* di Glicina in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di glicina ($C_2H_5NO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. Evaporare la soluzione fino ad ottenere una soluzione al 10 per cento *m/V* circa. A 2 ml di questa soluzione aggiungere una goccia di *fenolo R*, agitare ed aggiungere, accuratamente e senza agitare, 5 ml di *sodio ipoclorito soluzione concentrata R*: si sviluppa una colorazione azzurra.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 25 mg di glicina, a 10 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 25 mg di glicina *SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 30 volumi di *ammoniaca concentrata R* e 70 volumi di *propanolo R*. Seccare la lastra a 100-105 °C per 10 min. Spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *ninidrina R* in una miscela di 5 volumi di *acido acetico diluito R* e 95 volumi di *butanolo R*. Scaldare a 100-105 °C per 2 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 6,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire 10 ml della soluzione in esame, esattamente misurati, a 25 ml con *acqua R* e, se necessario, portare il pH della soluzione ottenuta a 7,0 con *sodio idrossido soluzione diluita R* o con *acido cloridrico soluzione diluita R*. Aggiungere 10 ml di *formaldeide R*, previamente portata a pH 9,0 con *sodio idrossido 0,1 M*, e titolare con *sodio idrossido 0,1 M* fino a pH 9,0.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 7,507 mg di $C_2H_5NO_2$.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH.

GLICINA E MANNITOLO SOLUZIONE PER IRRIGAZIONE

La soluzione per irrigazione di glicina e mannitolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni per irrigazione (1116)*.

DEFINIZIONE

La soluzione per irrigazione di glicina e mannitolo è una soluzione sterile ed apirogena contenente l'1,0 per cento *m/V* di Glicina e l'1,0 per cento *m/V* di Mannitolo in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di glicina ($C_2H_5NO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di mannitolo ($C_6H_{14}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. Evaporare a b.m. la soluzione fino ad ottenere una soluzione al 10 per cento *m/V* circa. A 2 ml di questa soluzione aggiungere una goccia di *fenolo R*, agitare ed aggiungere, accuratamente e senza agitare, 5 ml di *sodio ipoclorito soluzione concentrata R*: si sviluppa una colorazione azzurra.
- B. A 3 ml di una soluzione (100 g/l) di *pirocatecolo R*, preparata di recente, aggiungere 6 ml di *acido solforico R*. Raffreddare in acqua ghiacciata. A 3 ml della miscela raffreddata aggiungere 3 ml di soluzione in esame e scaldare leggermente a fiamma diretta per circa 30 s: si sviluppa una colorazione rosa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Glicina. Diluire 10 ml della soluzione in esame, esattamente misurati, a 25 ml con *acqua R* e, se necessario, portare il pH della soluzione ottenuta a 7,0 con *sodio idrossido soluzione diluita R* o con *acido cloridrico soluzione diluita R*. Aggiungere 10 ml di *formaldeide R*, previamente portata a pH 9,0 con *sodio idrossido 0,1 M*, e titolare con *sodio idrossido 0,1 M* fino a pH 9,0.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 7,507 mg di $C_2H_5NO_2$.

Mannitolo. Diluire una quantità di soluzione contenente 0,400 g di mannitolo a 100 ml con *acqua R*. Trasferire 10,0 ml della soluzione ottenuta in una beuta con tappo. Aggiungere 20,0 ml di una soluzione (21,4 g/l) di *sodio periodato R* e 2,0 ml di *acido solforico R* diluito e scaldare a b.m. per esattamente 15 min. Raffreddare e aggiungere 3 g di *sodio bicarbonato R* un poco alla volta, e 25,0 ml di *sodio arsenito 0,1 M*. Miscelare. Aggiungere 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R* e lasciare a riposo per 15 min. Titolare con *iodio 0,05 M* fino a che appare la prima traccia di colore giallo. Eseguire una titolazione in bianco.

1 ml di *iodio 0,05 M* equivale a 1,822 mg di $C_6H_{14}O_6$.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:
– l'intervallo di pH.

GLUCOSIO GEL OFTALMICO

Glucosio collirio solido

Il gel oftalmico di glucosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il gel oftalmico di glucosio è una preparazione sterile avente la seguente composizione:

<i>Glucosio monoidrato</i>	38,5 g
(corrispondente a <i>Glucosio anidro</i> 35,0 g)	
<i>Metile paraidrossibenzoato</i>	0,8 g
<i>Croscarmellosa sodica</i>	20 g
<i>Acqua depurata</i> sterile q.b. a	1000 g

Preparazione: disciogliere il Glucosio e il *Metile paraidrossibenzoato* a caldo in circa 210 g di *Acqua depurata*. Sterilizzare per filtrazione ed aggiungere asetticamente, sotto agitazione, alla soluzione costituita dalla *Croscarmellosa sodica* sciolta nella restante *Acqua depurata*, sterilizzata in autoclave a 121 °C per 30 min.

Contenuto di glucosio ($C_6H_{12}O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Gel idrofilo trasparente.

IDENTIFICAZIONE

Diluire 1 g di preparazione a 5 ml con *acqua R*. Aggiungere 1-2 ml di *cupritartarica soluzione R* e scaldare. Si forma un precipitato rosso.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare esattamente 5,0 g di preparazione e diluire a 50 ml con *ammoniaca diluita R1*. Agitare accuratamente e, dopo 30 min, misurare l'angolo di rotazione ottica (2.2.7) a 20 °C, in un tubo da 2 dm. Calcolare il contenuto di glucosio tenendo conto dell'angolo di rotazione ottica letto. Il potere rotatorio specifico per il glucosio è + 52,8°.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei, ben chiusi, al riparo dalla luce e dal calore.

GLUCOSIO PREPARAZIONI PARENTERALI

Glucosio soluzione perfusionale
Glucosio fiale

Le preparazioni parenterali di glucosio soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Le preparazioni parenterali di glucosio sono soluzioni sterili ed apirogene contenenti *Glucosio monoidrato* o *Glucosio anidro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di glucosio ($C_6H_{12}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità prescritta o indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzioni limpide ed incolori. Le soluzioni con una concentrazione uguale o superiore al 20 per cento possono avere un colore giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

- Diluire un volume di soluzione, corrispondente a 0,1 g di glucosio, a 2,5 ml con *acqua R*. Aggiungere 2,5 ml di *cupri-tartarica soluzione R* e scaldare. Si forma un precipitato rosso.
- La soluzione preparata per la determinazione quantitativa osservata al polarimetro è destrorotante (2.2.7).

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire la soluzione fino ad una concentrazione non superiore al 5 per cento con *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione è compreso tra 3,5 e 6,5.

5-Idrossimetilfurfurale e sostanze correlate. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250,0 ml con *acqua R*. L'assorbanza (2.2.25.) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,5 U.I./ml per una soluzione al 5 per cento *m/V*. Prima della determinazione diluire le soluzioni a concentrazione superiore al 5 per cento *m/V*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 5 g di glucosio, aggiungere 0,2 ml

di *ammoniaca diluita R1* ed *acqua R* fino a 100,0 ml. Mescolare, lasciare a riposo per 30 min. e determinare il potere rotatorio (2.2.7) in un tubo da 2 dm. L'angolo di rotazione letto, moltiplicato per 0,9479 rappresenta la massa in grammi di glucosio anidro ($C_6H_{12}O_6$) contenuto nel volume di soluzione in esame.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- per le soluzioni con concentrazione superiore al 5 per cento *m/V* "Soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione".
- la forma farmaceutica: infusione endovenosa (soluzione perfusionale) o preparazione iniettabile (fiale).

La soluzione di glucosio per infusione endovenosa contiene 50,0 g/l, 100,0 g/l, 200,0 g/l, 300,0 g/l, 330,0 g/l, 500,0 g/l o 700,0 g/l di glucosio anidro.

La soluzione di glucosio per preparazione iniettabile, distribuita in fiale, contiene 50,0 g/l, 100,0 g/l, 200,0 g/l o 330,0 g/l di glucosio anidro.

GLUCOSIO CON POTASSIO CLORURO INFUSIONE ENDOVENOSA

Glucosio con potassio cloruro
Soluzioni perfusionali I - II

L'infusione endovenosa di glucosio con potassio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di glucosio con potassio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente *Glucosio monoidrato* o *Glucosio anidro* e *Potassio cloruro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di glucosio ($C_6H_{12}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di potassio cloruro (KCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida o leggermente giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dicloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

- B. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 0,1 g di glucosio, con 10 ml di *acqua R*. Aggiungere 3 ml di *cupri-tartarica soluzione R* e scaldare. Si forma un precipitato rosso.
- C. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- D. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH delle soluzioni è compreso tra 3,5 e 6,5.

5-Idrossimetilfurfurale e sostanze correlate. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250,0 ml con *acqua R*. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,90 U.I./ml per la soluzione I (vedi Tabella); non più di 1,4 U.I./ml per la soluzione II (vedi Tabella).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Potassio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire un volume di soluzione, esattamente misurato ed equivalente a circa 0,30 g di potassio cloruro, a circa 50 ml con *acqua R*. Aggiungere 5,0 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *butile ftalato R*. Agitare e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* in presenza di 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* fino a che il colore vira al giallo-rossastro.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Glucosio. Ad un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 5 g di glucosio, aggiungere 0,2 ml di *ammoniaca diluita R1* ed *acqua R* fino a 100,0 ml. Mescolare, lasciare a riposo per 30 min e determinare il potere rotatorio (2.2.7) in un tubo da 2 dm. L'angolo di rotazione letto, moltiplicato per 0,9479 rappresenta la massa in grammi di glucosio anidro (C₆H₁₂O₆) contenuto nel volume di soluzione in esame.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- l'intervallo di pH,
- per la soluzione II "soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione".

Glucosio con sodio cloruro infusione endovenosa

L'infusione endovenosa di glucosio con potassio cloruro ha le composizioni indicate in Tabella:

Tabella

Componenti	Soluzione I	Soluzione II
Glucosio monoidrato	55,0 g	110,0 g
Potassio cloruro	2 g	3 g
Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a	1000 ml	1000 ml

GLUCOSIO CON SODIO CLORURO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa di glucosio con sodio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di glucosio con sodio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente *Glucosio monoidrato* o *Glucosio anidro* e *Sodio cloruro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di glucosio (C₆H₁₂O₆): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio cloruro (NaCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida o giallo paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 10 mg di glucosio, a 20 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con lo stesso miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dicloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

- B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
C. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH delle soluzioni è compreso tra 3,5 e 6,5.

5-Idrossimetilfurfurale e sostanze correlate. Diluire un volume della soluzione, esattamente misurato e corrispondente a 1,0 g di glucosio, a 250,0 ml con *acqua R*. L'assorbanza (2.2.25) della soluzione misurata a 284 nm non è superiore a 0,25.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,45 U.I./ml per la soluzione I (vedi Tabella); non più di 0,50 U.I./ml per la soluzione II (vedi Tabella) e non più di 0,25 U.I./ml per la soluzione III (vedi Tabella).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Cloruri. Diluire un volume di soluzione, esattamente misurato ed equivalente a circa 0,30 g di sodio cloruro, a circa 50 ml con *acqua R*. Aggiungere 5,0 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *butile ftalato R*. Agitare e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* in presenza di 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* fino a che il colore vira al giallo-rossastro.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Glucosio. Ad un volume di soluzione, esattamente misurato e corrispondente a circa 5 g di glucosio, aggiungere 0,2 ml di *ammoniaca diluita R1* ed *acqua R* fino a 100,0 ml. Mescolare, lasciare a riposo per alcuni min e determinare il potere rotatorio (2.2.7) in un tubo da 2 dm. L'angolo di rotazione letto, moltiplicato per 0,9479 rappresenta la massa in grammi di glucosio anidro (C₆H₁₂O₆) contenuto nel volume di soluzione in esame.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- per la soluzione II "soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione".

L'infusione endovenosa di glucosio con sodio cloruro ha le composizioni indicate in Tabella:

Tabella

Componenti	Soluzione I	Soluzione II	Soluzione III
<i>Glucosio monoidrato</i>	47,0 g	55,0 g	27,5 g
<i>Sodio cloruro</i>	1,8 g	9 g	4,5 g
<i>Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a</i>	1000 ml	1000 ml	1000 ml

GRISEOFULVINA COMPRESSE

Le compresse di griseofulvina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di griseofulvina contengono *Griseofulvina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di griseofulvina (C₁₇H₁₇ClO₆): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Disciogliere una quantità di polvere, corrispondente a circa 50 mg di griseofulvina, in 10 ml di *acido solforico R* e filtrare. Ad 1 ml del filtrato aggiungere circa 5 mg di *potassio dicromato R* in polvere. Si sviluppa una colorazione rosso-vino.

SAGGI

Dissoluzione. Utilizzare l'apparecchio ad agitatore a palette (2.9.3). Il liquido di dissoluzione è costituito da 1000 ml di *acqua R* contenente 40 mg/ml di *sodio lauril-solfato R*. La velocità di rotazione è regolata a 100 giri al minuto. Dopo 60 min prelevare 10 ml di liquido, diluire, se necessario, con il liquido di dissoluzione; dopo eventuale filtrazione misurare l'assorbanza a 291 nm. Calcolare la quantità di griseofulvina disciolta nel liquido di dissoluzione dal valore dell'assorbanza specifica della griseofulvina, determinato su una soluzione di *griseofulvina SCR* opportunamente diluita, nello stesso liquido di dissoluzione, usando questo come bianco. Non meno del 70 per cento della quantità dichiarata deve disciogliersi entro 60 min.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Trasferire in un matraccio tarato da 200,0 ml una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 80 mg di griseofulvina, aggiungere 150 ml circa di *alcohol R*, agitare per alcuni minuti, portare a volume con lo stesso solvente e filtrare. Diluire 2 ml del filtrato a 100,0 ml con *alcohol R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbi-

Ictammolo unguento

mento a 291 nm circa. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{17}ClO_6$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 686.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 125 mg o 250 mg di griseofulvina.

ICTAMMOLO GOCCE AURICOLARI SOLUZIONE

Glicerina ittiolata

Le gocce auricolari soluzione di ictammolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni auricolari (0652).

DEFINIZIONE

Le gocce auricolari di ictammolo contengono il 10 per cento *m/m* di Ictammolo in Glicerolo 85 per cento.

Contenuto di zolfo organico combinato: non meno dello 0,5 per cento *m/m*.

CARATTERI

Liquido denso, di colore bruno.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una piccola quantità di preparazione, aggiungere *sodio idrossido soluzione diluita R* e scaldare all'ebollizione: si sviluppa ammoniaca. Essiccare la miscela e bruciare: si ottiene una massa carboniosa che per aggiunta di *acido cloridrico R* sviluppa idrogeno solforato.
- B. Calcinare 0,5 g circa di preparazione con 0,5 g circa di *ammonio carbonato anidro R*. Estrarre il residuo con 10 ml di *acido cloridrico diluito R* e filtrare. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Zolfo organico combinato. Lo zolfo organico combinato viene determinato per differenza tra lo zolfo totale e lo zolfo in forma di solfato.

Zolfo totale. In una capsula di porcellana da 50 ml mescolare accuratamente circa 5 g di preparazione, esattamente pesati, con 4 g di *sodio carbonato anidro R*

e 5 ml di *cloroformio R*. Scaldare a b.m. fino a completa evaporazione del cloroformio ed aggiungere 20 g di *rame(-ico) nitrato R* in polvere. Mescolare e riscaldare la miscela lentamente, su piccola fiamma. Quando la reazione è quasi finita, aumentare lentamente la temperatura fino a che quasi tutta la sostanza sia annerita. Raffreddare, porre la capsula in un becher e aggiungere 20 ml di *acido cloridrico concentrato R* e, quando la reazione è terminata, 100 ml di *acqua R*. Far bollire fino a dissoluzione completa dell'ossido di rame, poi filtrare e diluire a circa 400 ml con *acqua R*. Scaldare all'ebollizione e aggiungere goccia a goccia 20 ml di *bario cloruro soluzione 0,25 M*. Lasciare a riposo per 2 h, filtrare, lavare il precipitato con *acqua R* calda ed essiccare in stufa a 105 °C. Calcinare in un crogiolo di porcellana a 600 °C fino a massa costante. Calcolare il contenuto percentuale di zolfo totale.

1 g di residuo equivale a 0,1374 g di S.

Zolfo in forma di solfato. Pesare circa 20 g di preparazione, aggiungere 2 g di *rame(-ico) cloruro R* disciolti in 80 ml di *acqua R* e diluire a 200 ml con *acqua R*. Agitare e filtrare. Scaldare 100 ml del filtrato quasi all'ebollizione, aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R* e 5 ml di *bario cloruro soluzione RI*, goccia a goccia, scaldando a b.m. Filtrare, lavare il precipitato con *acqua R*, seccare e calcinare a circa 600 °C, finché due pesate successive non differiscano per più dello 0,2 per cento della massa del residuo.

1 g del residuo equivale a 0,1374 g di S in forma di solfato.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce.

ICTAMMOLO UNGUENTO

Ittiolo unguento

L'unguento di ictammolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di ictammolo contiene il 10 per cento *m/m* di Ictammolo in *Vaselina bianca*.

Contenuto di zolfo organico combinato: non meno dello 0,5 per cento *m/m*.

CARATTERI

Unguento di colore bruno scuro, omogeneo, di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

- A. Fondere 5 g circa di preparazione in 10 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e scaldare all'ebollizione: si sviluppa ammoniacca. Essiccare la miscela e bruciare: si ottiene una massa carboniosa che per aggiunta di *acido cloridrico R* sviluppa idrogeno solforato.
- B. Calcinare 0,5 g circa di preparazione con 0,5 g circa di *ammonio carbonato anidro R*. Estrarre il residuo con 10 ml di *acido cloridrico diluito R* e filtrare. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Zolfo organico combinato. Lo zolfo organico combinato viene determinato per differenza tra lo zolfo totale e lo zolfo in forma di solfato.

Zolfo totale. In una capsula di porcellana da 50 ml mescolare accuratamente circa 5 g di preparazione, esattamente pesati, con 4 g di *sodio carbonato anidro R* e 5 ml di *cloroformio R*. Scaldare a b.m. fino a completa evaporazione del cloroformio ed aggiungere 10 g di *rame(-ico) nitrato R* in polvere. Mescolare e riscaldare la miscela lentamente, su piccola fiamma. Quando la reazione è quasi finita, aumentare lentamente la temperatura fino a che quasi tutta la sostanza sia annerita. Raffreddare, porre la capsula in un becher e aggiungere 20 ml di *acido cloridrico concentrato R* e, quando la reazione è terminata, 100 ml di *acqua R*. Far bollire fino a dissoluzione completa dell'ossido di rame, poi filtrare e diluire a circa 400 ml con *acqua R*. Scaldare all'ebollizione e aggiungere goccia a goccia 20 ml di *bario cloruro soluzione 0,25 M*. Lasciare a riposo per 2 h, filtrare, lavare il precipitato con *acqua R* calda ed essiccare in stufa a 105 °C. Calcinare in un crogiolo di porcellana, precedentemente tarato, a 600 °C fino a massa costante. Calcolare il contenuto percentuale di zolfo totale.

1 g di residuo equivale a 0,1374 g di S.

Zolfo in forma di solfato. Pesare circa 20 g di unguento, aggiungere 2 g di *rame(-ico) cloruro R* disciolti in 80 ml di *acqua R* e diluire a 200 ml con *acqua R*. Agitare e filtrare. Scaldare 100 ml del filtrato quasi all'ebollizione, aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R* e 5 ml di *bario cloruro soluzione R1*, goccia a goccia, scaldando a b.m. Filtrare, lavare il precipitato con *acqua R*, seccare e calcinare a circa 600 °C, finché due pesate successive non differiscano per più dello 0,2 per cento della massa del residuo.

1 g del residuo equivale a 0,1374 g di S in forma di solfato.

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso.

L'unguento contiene anche il 20 per cento m/m di ictammolo.

ICTAMMOLO UNGUENTO EMULSIONANTE

Ittiolo unguento lavabile

L'unguento emulsionante all'ictammolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

100 g di unguento hanno la seguente composizione:

<i>Ictammolo</i>	10 g
Unguento base che emulsiona acqua ⁽¹⁾	81 g
<i>Acqua depurata</i>	9 g

Preparazione: disperdere l'*Acqua depurata* nell'unguento base; incorporare quindi, a porzioni, l'*Ictammolo* sino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Unguento di colore bruno scuro, omogeneo, di odore caratteristico. Può assorbire ulteriore acqua.

IDENTIFICAZIONE

Scaldare in presenza di *sodio idrossido soluzione concentrata R*. Si sviluppano vapori di ammoniacca, identificabili dall'odore e dalla reazione alcalina.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

L'unguento contiene anche 20 g di ictammolo, 72 g di unguento base che emulsiona acqua e 8 g di acqua depurata.

⁽¹⁾ Può essere impiegato uno dei seguenti unguenti base: *Macrogol cetostearile etere unguento base, Alcooli di lanolina unguento base, Vaseline e lanolina unguento base.*

IDROCLOROTIAZIDE COMPRESSE

Le compresse di idroclorotiazide soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse* (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di idroclorotiazide contengono *Idroclorotiazide* in adeguati eccipienti.

Contenuto di idroclorotiazide ($C_7H_8ClN_3O_4S_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre con quattro porzioni successive, ciascuna da 20 ml di *acetone R*, una quantità di polvere corrispondente a circa 200 mg di idroclorotiazide. Filtrare, ed evaporare a secco il filtrato. Il residuo soddisfa alle reazioni di identificazione seguenti.

- A. Disciogliere una quantità di residuo corrispondente a circa 50,0 mg di idroclorotiazide in 10 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 2,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *sodio idrossido 0,01 M*. Esaminata tra 250 nm e 350 nm (2.2.25) la soluzione mostra massimi di assorbimento a 273 nm e 323 nm. Il rapporto tra l'assorbanza misurata al massimo a 273 nm e quella misurata al massimo a 323 nm è compreso tra 5,4 e 5,7.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando lastre adatte di gel di silice con un indicatore di fluorescenza che abbia un'intensità ottimale a 254 nm.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di residuo corrispondente a 50 mg di idroclorotiazide in 10 ml di *acetone R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *idroclorotiazide SCR* in *acetone R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando *etile acetato R*. Seccare la lastra in una corrente d'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Dissoluzione. Utilizzare l'apparecchio ad agitatore a paletta (2.9.3). Il liquido di dissoluzione è costituito da 900 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. La velocità di rotazione è regolata a 50 giri al minuto. Dopo 60 min prelevare 10 ml di liquido, diluire, se necessario, con il liquido di dissoluzione; dopo eventuale filtrazione misurare l'assorbanza a 273 nm. Calcolare la quantità di idroclorotiazide disciolta nel liquido di dissoluzione dal valore dell'assorbanza specifica dell'idroclorotiazide, determinato su una soluzione di *idroclorotiazide SCR* opportunamente diluita nello stesso liquido di dissoluzione e usando questo come bianco. Non meno del 60 per cento della quantità dichiarata deve disciogliersi entro 60 min.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Trasferire in un pallone tarato da 100 ml una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 40 mg circa di idroclorotiazide ed agitare con 50 ml di *acqua R* e 2 ml di *sodio idrossido 1 M*. Portare a volume con *acqua R* e filtrare, eliminando i primi 10 ml del filtrato. Prelevare 2 ml del filtrato successivo e diluirli a 200 ml con *sodio idrossido 0,01 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta, al massimo di assorbimento a 273 nm circa, utilizzando *sodio idrossido 0,01 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 515.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 25 mg o 50 mg di idroclorotiazide.

**IDROCORTISONE PREPARAZIONE
OFTALMICA SEMISOLIDA**

Idrocortisone acetato pomata oftalmica

La preparazione oftalmica semisolida di idrocortisone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

La preparazione oftalmica semisolida di idrocortisone è una preparazione sterile avente le seguenti composizioni:

<i>Idrocortisone acetato</i>	10 g	20 g
<i>Paraffina liquida</i>	100 g	100 g
<i>Vaselina bianca</i>	890 g	880 g

Preparazione: disperdere con tecnica asettica l'*Idrocortisone acetato*, opportunamente micronizzato e sterilizzato, nella *Paraffina liquida* previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h. Aggiungere, quindi, sotto agitazione, la *Vaselina bianca* fusa, previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h, mescolando fino a completa solidificazione e omogeneizzazione.

Contenuto di idrocortisone acetato (C₂₃H₃₂O₆): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione di consistenza pastosa, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 30 mg circa di idrocortisone acetato, aggiungere 10 ml di *alcool R*, scaldare a b.m., omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e diluire a 10 ml con *alcool R*.

- A. A 2 ml della soluzione ottenuta aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si forma una colorazione gialla con fluorescenza verde particolarmente intensa se osservata alla luce ultravioletta a 365 nm. Aggiungere 10 ml di *acqua R* e mescolare: la fluorescenza permane.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando appropriate lastre di gel di silice con un indicatore di fluorescenza che abbia un'intensità ottimale a 254 nm.

Soluzione in esame. Diluire 3 ml della soluzione alcoolica a 10 ml con una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *idrocortisone acetato SCR* in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Preparare la fase mobile aggiungendo una miscela di 1,2 volumi di *acqua R* e 8 volumi di *metanolo R* ad una miscela di 15 volumi di *etere R* e 77 volumi di *diclorometano R*. Eluire per un percorso di 15 cm. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a circa 35 mg di idrocortisone acetato, aggiungere 30 ml di *alcool esente da aldeide R* e scaldare a b.m. Mescolare, omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e ripetere l'estrazione con tre porzioni da 20 ml ciascuna di *alcool esente da aldeide R*. Riunire le fasi alcooliche e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 2,0 ml della soluzione a 20,0 ml con lo stesso solvente. Preparare contemporaneamente una soluzione (0,035 g/l) di *idrocortisone acetato SCR* in *alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 1 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come riferimento 10 ml di *alcool esente da aldeidi R* trattati alla stessa maniera. Determinare il contenuto di C₂₃H₃₂O₆ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

CONSERVAZIONE

In adatto contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

IDROCORTISONE PREPARAZIONE SEMISOLIDA PER APPLICAZIONE CUTANEA

Idrocortisone acetato crema
Idrocortisone acetato ungento

La preparazione semisolida per applicazione cutanea di idrocortisone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La preparazione semisolida per applicazione cutanea di idrocortisone contiene *Idrocortisone acetato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di idrocortisone acetato ($C_{23}H_{32}O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione omogenea di consistenza pastosa.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 30 mg circa di idrocortisone acetato, aggiungere 10 ml di *alcool R*, scaldare a b.m., omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e diluire a 10 ml con *alcool R*.

- A. A 2 ml della soluzione ottenuta aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si forma una colorazione gialla con fluorescenza verde particolarmente intensa se osservata alla luce ultravioletta a 365 nm. Aggiungere 10 ml di *acqua R* e mescolare: la fluorescenza permane.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando appropriate lastre di gel di silice con un indicatore di fluorescenza che abbia un'intensità ottimale a 254 nm.

Soluzione in esame. Diluire 3 ml della soluzione alcoolica a 10 ml con una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *idrocortisone acetato SCR* in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 5 μ l di ciascuna soluzione. Preparare la fase mobile aggiungendo una miscela di 1,2 volumi di *acqua R* e 8 volumi di *metanolo R* ad una miscela di 15 volumi di *etere R* e 77 volumi di *diclorometano R*. Eluire per un percorso di 15 cm. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a circa 35 mg di idrocortisone acetato, aggiungere 30 ml di *alcool esente da aldeide R* e scaldare a b.m. Mescolare, omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e ripetere l'estrazione con tre porzioni da 20 ml ciascuna di *alcool esente da aldeide R*. Riunire le fasi alcooliche e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 2,0 ml della soluzione a 20,0 ml con lo stesso solvente. Preparare contemporaneamente una soluzione (0,035 g/l) di *idrocortisone acetato SCR* in *alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 1 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come riferimento 10 ml di *alcool esente da aldeidi R* trattati alla stessa maniera. Determinare il contenuto di $C_{23}H_{32}O_6$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

CONSERVAZIONE

In adatto contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la forma farmaceutica (crema o unguento).

La preparazione contiene l'1 per cento m/m di idrocortisone acetato.

**IDROCORTISONE E NEOMICINA
COLLIRIO SOSPENSIONE**

Sospensione di idrocortisone acetato in soluzione oftalmica di neomicina solfato

L'idrocortisone e neomicina collirio sospensione soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

L'idrocortisone e neomicina collirio sospensione è una preparazione isotonica, sterile, contenente *Idrocortisone acetato* e *Neomicina solfato* (in rapporto 3:1) in *Acqua depurata* e adeguati eccipienti.

Contenuto di idrocortisone acetato ($C_{23}H_{32}O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Attività della neomicina solfato: non meno del 90,0 per cento e non più del 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di neomicina solfato indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione uniforme, lattescente dopo agitazione.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce.

Idrocortisone acetato. Centrifugare una quantità di preparazione, precedentemente agitata, corrispondente a 75 mg circa di idrocortisone acetato, lavare il residuo due volte con *acqua R*, centrifugando. Seccare il residuo ottenuto a 105 °C. Disciogliere 2 mg circa di residuo in 2 ml di *alcool R*, aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si forma una colorazione gialla con fluorescenza verde particolarmente intensa se osservata alla luce ultravioletta a 365 nm. Aggiungere 10 ml di *acqua R* e mescolare: la fluorescenza permane.

Neomicina solfato. Centrifugare una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg circa di neomicina solfato (soluzione 1).

- A. La soluzione 1 dà la reazione caratteristica dei solfati (2.3.1).
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La soluzione 1.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di *neomicina solfato SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 4 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una soluzione (38,5 g/l) di *ammonio acetato R* in *acqua R* preparata al momento dell'uso. Lasciar seccare la lastra all'aria per 20 min e poi a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra ancora calda con una soluzione (1 g/l) di *ninidrina R* in *butanolo R* saturo di *acqua R* e scaldare di nuovo a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione è compreso tra 5,5 e 7,5.

Dimensione delle particelle. Il 99 per cento delle particelle di idrocortisone acetato non deve avere dimensioni superiori a 200 µm.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Idrocortisone acetato. Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 15 mg circa di idrocortisone acetato, a 20 ml con *acqua R*, estrarre con quattro porzioni ciascuna da 20 ml di *cloroformio R*. Filtrare gli estratti cloroformici riuniti su cotone imbevuto di *cloroformio R* ed evaporare a secco in corrente di *azoto esente da ossigeno R*. Disciogliere il residuo in *alcool esente da aldeide R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 3,0 ml di questa soluzione a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Preparare contemporaneamente una soluzione (0,035 g/l) di *idrocortisone acetato SCR* in *alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 1 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come riferimento 10 ml di *alcool esente da aldeide R* trattati alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $C_{23}H_{32}O_6$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

Neomicina solfato. Centrifugare a lungo una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg circa di neomicina solfato. Diluire 1,0 ml della soluzione a 50,0 ml

Idrocortisone e neomicina preparazione oftalmica semisolida

con *tampone soluzione a pH 8 R*. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *neomicina solfato SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In adeguato contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

Il collirio sospensione contiene l'1,5 per cento m/m e lo 0,5 per cento m/m rispettivamente di idrocortisone acetato e neomicina solfato.

IDROCORTISONE E NEOMICINA PREPARAZIONE OFTALMICA SEMISOLIDA

Idrocortisone acetato e neomicina solfato
pomata oftalmica

L'idrocortisone e neomicina preparazione oftalmica semisolida soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (I163).

DEFINIZIONE

L'idrocortisone e neomicina preparazione oftalmica semisolida è una preparazione sterile avente la seguente composizione:

<i>Idrocortisone acetato</i>	10 g
<i>Neomicina solfato</i>	5 mg
<i>Paraffina liquida</i>	100 g
<i>Vaselina bianca</i>	000 g

Preparazione: disperdere con tecnica asettica l'*Idrocortisone acetato* e la *Neomicina solfato*, convenientemente micronizzati e sterilizzati, nella *paraffina liquida* previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h. Aggiungere sotto continua agitazione la *Vaselina bianca* fusa, previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h, mescolando fino a completa solidificazione ed omogeneizzazione.

Contenuto di idrocortisone acetato (C₂₃H₃₂O₆): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Attività della neomicina solfato: non meno del 90,0 per cento e non più del 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di neomicina solfato indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione di consistenza pastosa, filante, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce.

Idrocortisone acetato. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg circa di idrocortisone acetato, aggiungere 10 ml di *alcool R*, scaldare a b.m., omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e diluire a 10 ml con *alcool R*. A 2 ml della soluzione aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si forma una colorazione gialla con fluorescenza verde particolarmente intensa se osservata alla luce ultravioletta a 365 nm. Aggiungere 10 ml di *acqua R* e mescolare: la fluorescenza permane.

Neomicina solfato. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 30 mg circa di neomicina solfato, aggiungere 20 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con tre porzioni successive ciascuna da 10 ml di *acqua R*. Riunire le fasi acquose (soluzione 1).

- La soluzione 1 dà la reazione caratteristica dei solfati (2.3.1).
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La soluzione 1.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *neomicina solfato SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una soluzione (38,5 g/l) di *ammonio acetato R* in *acqua R*, preparata al momento dell'uso. Lasciar seccare la lastra all'aria per 20 min e poi a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra ancora calda con una soluzione (1 g/l) di *ninidrina R* in *butanolo R* saturo di *acqua R* e scaldare di nuovo a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Idrocortisone acetato. Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 35 mg circa di idrocortisone acetato, aggiungere 30 ml di *alcool esente da aldeide R* e scaldare a b.m. Mescolare, omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e ripetere l'estrazione con tre porzioni da 20 ml ciascuna di *alcool esente da aldeide R*. Riunire le fasi alcoliche e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 2,0 ml della soluzione a 20 ml con lo stesso solvente. Preparare contemporaneamente una soluzione

(0,035 g/l) di *idrocortisone acetato SCR* in *alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 1 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come riferimento 10 ml di *alcool esente da aldeide R* trattati alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $C_{23}H_{32}O_6$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

Neomicina solfato. Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 5 mg circa di neomicina solfato, aggiungere 20 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con 10 ml di *tampone soluzione a pH 8 R*. Ripetere l'estrazione per altre tre volte. Diluire a 50,0 ml gli estratti acquosi, filtrati e riuniti, con lo stesso solvente. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *neomicina solfato SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In adeguato contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

IDROCORTISONE E NEOMICINA PREPARAZIONE SEMISOLIDA PER APPLICAZIONE CUTANEA

Idrocortisone acetato e neomicina solfato crema
Idrocortisone acetato e neomicina solfato
unguento

L'idrocortisone e neomicina preparazione semisolida per applicazione cutanea soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'idrocortisone e neomicina preparazione semisolida per applicazione cutanea è una preparazione contenente *Idrocortisone acetato* e *Neomicina solfato* (in rapporto 2:1) in adeguati eccipienti.

Contenuto di idrocortisone acetato ($C_{23}H_{32}O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Attività della neomicina solfato: non meno del 90,0 per cento e non più del 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di neomicina solfato indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione di consistenza pastosa.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce.

Idrocortisone acetato. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg circa di idrocortisone acetato, aggiungere 10 ml di *alcool R*, scaldare a b.m., omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e diluire a 10 ml con *alcool R*. A 2 ml della soluzione aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si forma una colorazione gialla con fluorescenza verde particolarmente intensa se osservata alla luce ultravioletta a 365 nm. Aggiungere 10 ml di *acqua R* e mescolare: la fluorescenza permane.

Neomicina solfato. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 30 mg circa di neomicina solfato, aggiungere 20 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con tre porzioni successive ciascuna da 10 ml di *acqua R*. Riunire le fasi acquose (soluzione 1).

- La soluzione 1 dà la reazione caratteristica dei solfati (2.3.1).
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La soluzione 1.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *neomicina solfato SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una soluzione (38,5 g/l) di *ammonio acetato R* in *acqua R*, preparata al momento dell'uso. Lasciar seccare la lastra all'aria per 20 min e poi a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra ancora calda con una soluzione (1 g/l) di *ninidrina R* in *butanolo R* saturo di *acqua R* e scaldare di nuovo a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Idroxocobalamina preparazione iniettabile

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Idrocortisone acetato. Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 35 mg circa di idrocortisone acetato, aggiungere 30 ml di *alcool esente da aldeide R* e scaldare a b.m. Mescolare, omogeneizzare e raffreddare in frigorifero. Filtrare la soluzione alcoolica e ripetere l'estrazione con tre porzioni da 20 ml ciascuna di *alcool esente da aldeide R*. Riunire le fasi alcoliche e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 2,0 ml della soluzione a 20 ml con lo stesso solvente. Preparare contemporaneamente una soluzione (0,035 g/l) di *idrocortisone acetato SCR in alcool esente da aldeide R*. A 10,0 ml di ciascuna soluzione aggiungere 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Far gorgogliare *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione diluita R* e ripetere il gorgogliamento con *azoto esente da ossigeno R*. Chiudere i recipienti, agitare lievemente e lasciare a riposo a b.m. a 30 °C per 1 h. Raffreddare e diluire a 25,0 ml con *alcool esente da aldeide R*. Misurare le assorbanze (2.2.25) delle due soluzioni a 485 nm usando come riferimento 10 ml di *alcool esente da aldeide R* trattati alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $C_{23}H_{32}O_6$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle diluizioni effettuate.

Neomicina solfato. Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 5 mg circa di neomicina solfato, aggiungere 20 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con 10 ml di *tampone soluzione a pH 8 R*. Ripetere l'estrazione per altre tre volte. Diluire a 50,0 ml gli estratti acquosi, filtrati e riuniti, con lo stesso solvente. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *neomicina solfato SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In adeguato contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la specifica forma farmaceutica (crema o unguento).

La preparazione semisolido per applicazione cutanea contiene l'1,0 per cento m/m e lo 0,5 per cento m/m rispettivamente di idrocortisone acetato e neomicina solfato.

IDROXOCOBALAMINA PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di Idroxocobalamina soddisfa ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di idroxocobalamina è una soluzione sterile di *Idroxocobalamina acetato*, *Idroxocobalamina solfato* o *Idroxocobalamina cloruro* nel prescritto volume di solvente.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile nel prescritto volume di solvente.

Idroxocobalamina per preparazione iniettabile

Idroxocobalamina liofilizzato

L'idroxocobalamina per preparazione iniettabile soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'idroxocobalamina preparazione iniettabile è costituita da una polvere sterile liofilizzata di *Idroxocobalamina acetato*, *Idroxocobalamina solfato* o *Idroxocobalamina cloruro*. Può contenere eccipienti.

Contenuto di idroxocobalamina ($C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$): non meno del 95,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Polvere liofilizzata di colore rosaceo o rosso, igroscopica.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 260 nm e 610 nm (2.2.25), mostra tre massimi di assorbimento, a 274 nm, 351 nm e a 525 nm. Il rapporto tra l'assorbanza al massimo a 274 nm e quella al massimo a 351 nm è compreso tra 0,75 e 0,83. Il rapporto tra l'assorbanza al massimo a 525 nm e quella al massimo a 351 nm è compreso tra 0,31 e 0,35.

B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento. *Effettuare il saggio al riparo dalla luce.*

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di liofilizzato corrispondente a 2 mg di idroxocobalamina in 1 ml di una miscela di volumi uguali di *alcool R* e *acqua R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 2 mg di *idroxocobalamina SCR* in 1 ml di una miscela di volumi uguali di *alcool R* e *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire in una vasca non satura per un percorso di 12 cm usando una miscela di 25 volumi di *ammoniaca diluita R1* e 75 volumi di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. Esaminare alla luce del giorno. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Aspetto della soluzione. Disciogliere il liofilizzato nel diluente. La soluzione ottenuta è limpida (2.2.1) e colorata in rosso.

pH (2.2.3). Tra 3,8 e 5,5, determinato sulla soluzione del liofilizzato nel diluente.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29). *Usare soluzioni preparate di recente e proteggerle dalla luce.*

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere corrispondente a 10,0 mg di idroxocobalamina nella fase mobile e diluire a 10,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 5,0 ml della soluzione in esame a 100,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1,0 ml della soluzione in esame a 10,0 ml con la fase mobile. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere una quantità di polvere corrispondente a 10 mg di idroxocobalamina in 5 ml di *acqua R*, scaldando se necessario. Lasciar raffreddare e aggiungere 0,4 ml di una soluzione (20 g/l) di *cloramina R* e 0,2 ml di *acido cloridrico 0,05 M*.

Diluire a 10 ml con *acqua R*. Agitare e lasciare a riposo per 5 min. Iniettare immediatamente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4 mm impaccata con *gel di silice otttilsililato per cromatografia R* (5µm),

- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,5 ml per minuto, una miscela preparata come segue: mescolare 19,5 volumi di *metanolo R* e 80,5 volumi di una soluzione contenente 15 g/l di *acido citrico R* e 8,1 g/l di *sodio fosfato dibasico R*,

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 351 nm,

- un iniettore a volume fisso.

Iniettare separatamente 20 µl di ciascuna soluzione e continuare la cromatografia per quattro volte il tempo di ritenzione del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, la somma delle aree di tutti i picchi, escluso il picco principale, non è maggiore del doppio dell'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (1,0 per cento). Trascurare ogni picco la cui area è inferiore a quella del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) (0,1 per cento). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (c) presenta tre picchi principali e la risoluzione tra ciascuna coppia di picchi adiacenti è almeno 3,0; il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta un picco principale con un rapporto segnale-rumore di almeno 5.

Endotossine batteriche (2.6.14). La concentrazione massima ammessa è di 350 U.I. di endotossine per milligrammo.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Proteggere le soluzioni dalla luce durante tutta la determinazione quantitativa. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 2 mg circa di idroxocobalamina, in una soluzione contenente lo 0,8 per cento V/V di *acido acetico glaciale R* e 10,9 g/l di *sodio acetato R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 351 nm. Calcolare il contenuto di $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 190 per il cloruro, 188 per il solfato e 187 per l'acetato.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini sterili possono contenere polvere liofilizzata corrispondente a 100µg, 1000µg o 5000µg di idroxocobalamina da disciogliere con il solvente prima dell'uso.

IMIPRAMINA COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di imipramina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse* (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di imipramina contengono *Imipramina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di imipramina cloridrato ($C_{19}H_{25}ClN_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 250 mg di imipramina cloridrato, con 50 ml di *cloroformio R*, filtrare ed evaporare il filtrato fino al volume di 3 ml circa, aggiungere *etere R* fino ad intorbidimento e lasciare a riposo. Il precipitato che si separa, cristallizzato da *acetone R*, lavato con *etere R* ed essiccato sottovuoto a 60 °C per 30 min, soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione.

- Disciogliere una quantità di residuo, corrispondente a circa 20 mg di imipramina cloridrato, in *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 100 ml con lo stesso acido. Diluire 1 ml della soluzione a 10 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. Esaminata tra 230 nm e 350 nm, la soluzione mostra un singolo massimo di assorbimento (2.2.25) a 251 nm e un flesso a 270 nm. L'assorbanza specifica al massimo è di circa 260.
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *imipramina cloridrato SCR*. Esaminare le sostanze come dispersione in pasticche.
- Disciogliere una quantità di residuo corrispondente a circa 5 mg di imipramina cloridrato in 2 ml di *acido nitrico R*. Si sviluppa un'intensa colorazione blu.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 200 mg di imipramina cloridrato, con tre porzioni successive da 10 ml ciascuna di *cloroformio R* e filtrare. Evaporare a secco, a pressione ridotta, gli estratti cloroformici riuniti e riprendere il residuo con 10 ml di *metanolo R* contenenti 1 ml di *ammoniaca R*.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 10 ml con *metanolo R*. Diluire 1 ml di questa soluzione a 50 ml con *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (b). Preparare immediatamente prima dell'uso. Disciogliere 5 mg di *imminodibenzile R* in *metanolo R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 12 cm usando una miscela di 5 volumi di *acido cloridrico R*, 5 volumi di *acqua R*, 35 volumi di *acido acetico glaciale R* e 55 volumi di *etile acetato R*. Lasciar seccare la lastra all'aria per 5 min e spruzzare con una soluzione (5 g/l) di *potassio dicromato R* in una miscela di 1 volume di *acido solforico R* e 4 volumi di *acqua R*. Esaminare la lastra immediatamente. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame mostra una macchia principale blu. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame un'eventuale macchia corrispondente all'imminodibenzile non è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b); nessuna macchia, ad eccezione della macchia principale e di un'eventuale macchia corrispondente all'imminodibenzile, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Uniformità di contenuto (2.9.6). *Compresse rivestite da 10 mg.* Polverizzare finemente ogni compressa. Aggiungere 25 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, agitare per 1 h e diluire a 50,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Filtrare, eliminare i primi 20 ml di filtrato e trasferire 10,0 ml del filtrato successivo in un imbuto separatore. Aggiungere 15 ml di *sodio idrossido 0,1 M* ed estrarre con quattro porzioni successive, da 20 ml ciascuna di *etere R*. Estrarre gli estratti eteri riuniti con quattro porzioni successive, da 20 ml ciascuna di *acido cloridrico 0,1 M R*. Diluire gli estratti acidi riuniti, dopo eliminazione dell'etere residuo in corrente di *azoto R*, a 100 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare l'assorbanza della soluzione (2.2.25) al massimo di assorbimento a 250 nm circa, utilizzando *acido cloridrico 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{19}H_{25}ClN_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 264.

Compresse rivestite da 25 mg. Polverizzare finemente ogni compressa e aggiungere circa 25 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Agitare per 1 h e diluire a 50,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Filtrare, eliminare i primi 20 ml del filtrato e trasferire 5 ml del filtrato successivo in un imbuto separatore. Aggiungere 10 ml di *sodio idros-*

sido 0,1 M ed estrarre con quattro porzioni successive, da 20 ml ciascuna di *acido cloridrico 0,1 M R*. Estrarre gli estratti eteri riuniti con quattro porzioni successive, da 20 ml ciascuna di *etere R*. Diluire gli estratti acidi riuniti, dopo eliminazione dell'etere residuo in corrente di *azoto R*, a 100 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare l'assorbanza della soluzione (2.2.25) al massimo di assorbimento a 250 nm circa, utilizzando *acido cloridrico 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{19}H_{25}ClN_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 264.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse, e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 100 mg di imipramina cloridrato, aggiungere 100 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, agitare per 30 min e portare al volume di 200 ml; filtrare e scartare i primi 20 ml del filtrato. Trasferire in un imbuto separatore 5,0 ml del filtrato successivo. Aggiungere 10 ml *sodio idrossido 0,1 M* ed estrarre con quattro porzioni successive da 20 ml ciascuna di *acido cloridrico R*. Estrarre gli estratti eteri riuniti con quattro porzioni successive, da 20 ml ciascuna, di *etere R*. Diluire gli estratti acidi riuniti, dopo eliminazione dell'etere residuo in corrente di *azoto R*, a 100 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare l'assorbanza della soluzione (2.2.25) al massimo di assorbimento a 250 nm circa, utilizzando *acido cloridrico 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{19}H_{25}ClN_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 264.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse possono contenere 10 mg o 25 mg di imipramina cloridrato.

IODIO SOLUZIONE CUTANEA

Iodio soluzione alcoolica I
Tintura di Iodio

La soluzione cutanea di iodio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di iodio contiene il 7 per cento *m/V* di Iodio e il 5 per cento *m/V* di *Potassio ioduro* ed il 5 per cento *m/V* di *Acqua depurata* in *Etanolo 96 per cento*.

Contenuto di iodio (I): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di potassio ioduro (KI): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido, rosso-bruno intenso con odore caratteristico di iodio.

IDENTIFICAZIONE

- Agitare 2-3 ml della soluzione con 1 ml di *cloroformio R*: dopo separazione lo strato cloroformico è colorato in violetto.
- Ad una piccola quantità della soluzione aggiungere alcune gocce di *salda d'amido R*: si sviluppa una colorazione violetta.
- Ad una piccola quantità della soluzione aggiungere alcune gocce di una soluzione (1 per cento *m/V*) di *argento nitrato R* in *acqua R*: si ottiene un precipitato giallo caseoso insolubile in *ammoniaca 2 M* e in *acido nitrico 2 M*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Iodio. In un becher da 150 ml introdurre 5,0 ml della soluzione in esame, esattamente misurato, e diluire con *acqua depurata R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, fino a colorazione giallo pallido; aggiungere alcune gocce di *amido soluzione R* e proseguire la titolazione fino a completa decolorazione della soluzione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 12,69 mg di I.

Potassio ioduro. In un becher da 150 ml introdurre 5,0 ml della soluzione in esame, esattamente misurati, diluire a circa 30 ml con *acqua depurata R* ed aggiungere 20 ml di *acido solforico diluito R* e 2 g di *zinco polvere R*. Riscaldare leggermente a b.m. fino a completa decolorazione. Filtrare e lavare il recipiente e il filtro con *acqua R*, conservando filtrato e lavaggi. Alla soluzione ottenuta aggiungere 50 ml, esattamente misurati, di *argento nitrato 0,1 M*; lasciare a riposo per 12 h, oppure scaldare leggermente fino a coagulazione del precipitato. Titolare l'eccesso di argento nitrato con *ammonio tiocianato 0,1 M* dopo aggiunta di 1 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore e agitando il soprannatante, fino a colorazione debolmente rosa della soluzione.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 16,60 mg di KI.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso di materiale resistente allo iodio, al riparo dalla luce e dal calore.

IODIO SOLUZIONE ORALE

Iodio soluzione alcoolica II

La soluzione orale di iodio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni liquide per uso orale (0672)*.

DEFINIZIONE

La soluzione orale di iodio ha la seguente composizione:

Iodio	2,0 g
Potassio ioduro	2,5 g
Acqua depurata	2,5 g
Etanolo 96 per cento q.b. a	100 ml

Contenuto di iodio (I): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di potassio ioduro (KI): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido, rosso-bruno intenso con odore caratteristico di iodio.

IDENTIFICAZIONE

- Agitare 2-3 ml di preparazione con 1 ml di *clorofornio R*: dopo separazione lo strato di solvente organico è colorato in violetto.
- Ad una piccola quantità di preparazione aggiungere *salda d'amido R*: si sviluppa una colorazione violetta.
- Ad una piccola quantità di preparazione aggiungere alcune gocce di una soluzione (1 per cento *m/V*) di *argento nitrato R* in *acqua R*: si ottiene un precipitato giallo caseoso insolubile in *ammoniaca 2 M* e in *acido nitrico 2 M*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Iodio. In un becher da 150 ml introdurre 20,0 ml di preparazione, esattamente misurati, e diluire con *acqua depurata R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* fino a colorazione giallo pallido; aggiungere alcune gocce di *amido soluzione R* e proseguire la titolazione fino a completa decolorazione della soluzione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 12,69 mg di I.

Potassio ioduro. In un becher da 150 ml introdurre 10,0 ml di preparazione, esattamente misurati, e diluire

a circa 30 ml con *acqua depurata R* ed aggiungere 20 ml di *acido solforico diluito R* e 2 g di *zinco polvere R*. Riscaldare leggermente a b.m. fino a completa decolorazione, filtrare e lavare il recipiente ed il filtro con *acqua R*, conservando il filtrato e i lavaggi. Alla soluzione ottenuta aggiungere 50,0 ml esattamente misurati di *argento nitrato 0,1 M*; se possibile lasciare a riposo per 12 h, altrimenti scaldare leggermente fino a coagulazione del precipitato. Titolare l'eccesso di argento nitrato con *ammonio tiocianato 0,1 M*, dopo aggiunta di 1 ml di *ferro (-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore e agitando il più possibile il soprannatante, fino a colorazione debolmente rosa della soluzione.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 16,60 mg di KI.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso di materiale resistente allo iodio, al riparo dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione da diluire a gocce in liquido idoneo prima dell'uso.

IODIO UNGUENTO

Iodo-iodurato unguento

L'unguento di iodio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132)*.

DEFINIZIONE

L'unguento di iodio contiene il 2 per cento *m/m* di *Iodio* ed il 10 per cento *m/m* di *Potassio ioduro* dispersi in *Vaselina* e *Lanolina unguento base*.

Contenuto di iodio (I): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di potassio ioduro (KI): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento omogeneo di colore bruno, filante, con odore di iodio.

IDENTIFICAZIONE

- A. Dibattere 3-4 g di preparazione con 10 ml di *etanolo 96 per cento R* scaldando lievemente a b.m. per alcuni minuti e lasciare decantare. A 5 ml di *amido soluzione R* aggiungere 1 ml del liquido decantato: si sviluppa una colorazione blu.
- B. Ad 1 ml della soluzione alcoolica ottenuta nella reazione di identificazione A aggiungere 1 ml di *acqua R* e 2 ml di *cloroformio R*. Agitare per alcuni secondi e lasciare a riposo. Lo strato cloroformico si colora in violetto.
- C. Acidificare 2 ml della soluzione alcoolica ottenuta nella reazione di identificazione A con *acido nitrico diluito R*. Aggiungere 0,4 ml di *argento nitrato soluzione RI*. Agitare e lasciare a riposo. Si forma un precipitato caseoso giallo pallido. Centrifugare e lavare il precipitato con tre porzioni, ciascuna di 1 ml, di *acqua R*. Effettuare questa operazione rapidamente, a riparo dalla luce viva e non considerando il fatto che la soluzione soprannatante possa non essere perfettamente limpida. Sospendere il precipitato in 2 ml di *acqua R* e aggiungere 1,5 ml di *ammoniaca diluita R*. Il precipitato non si discioglie.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Iodio. Trasferire 5,00 g di preparazione, esattamente pesati, in un becher da 100 ml. Aggiungere 20 ml di *acqua R* e 20 ml di *cloroformio R*; agitare efficacemente sino a dispersione della fase grassa nello strato cloroformico. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, utilizzando come indicatore *amido soluzione R*.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 12,69 mg di I.

Potassio ioduro. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) a scambio ionico.

Soluzione in esame. Trasferire 0,100 g di preparazione, esattamente pesati, in un becher da 150 ml. Aggiungere 100,0 ml di *acqua R*, scaldare alcuni minuti a b.m. agitando efficacemente sino a dispersione completa dell'unguento nella fase acquosa, raffreddare e filtrare. Utilizzare la soluzione ottenuta.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 100 mg di *potassio ioduro R* in *acqua R*, diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente e mescolare. Diluire 10,0 ml della soluzione ottenuta a 100,0 ml con *acqua R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 3 cm e con diametro interno di 4,6 mm, impaccata con base metacrilato ed ammina quaternaria alcan-

lica (7 µm); usare una precolonna lunga 7,5 mm e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con lo stesso riempimento della colonna e un soppressore di anioni,

- come fase mobile una miscela di una soluzione (142,8 g/l) di *sodio bicarbonato R* e una soluzione (190,8 g/l) di *sodio carbonato R* ad una velocità di flusso di 0,50 ml/min,
- come rivelatore un conduttimetro regolato a una sensibilità di 10 µS, con una temperatura di cella fissata a 35 °C e con polarità positiva.

Equilibrare la colonna con la fase mobile per almeno 1 h. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e della soluzione in esame. Determinare la quantità di potassio ioduro nella soluzione in esame in base alle aree dei picchi ottenuti rispettivamente per la soluzione di riferimento e per la soluzione in esame.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce e dal calore.

IODIO E ACIDO SALICILICO SOLUZIONE CUTANEA

Iodio-salicilica soluzione idroalcoholica

La soluzione cutanea di iodio e acido salicilico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea ha la seguente composizione:

<i>Iodio</i>	1 g
<i>Acido salicilico</i>	1 g
<i>Etanolo 96 per cento</i>	66,2 g
<i>Acqua depurata</i>	31,8 g

Contenuto di iodio (I): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: disciogliere lo *Iodio* nell'*Etanolo 96 per cento*, aggiungere l'*Acido salicilico* e portare a peso con *Acqua depurata*. Filtrare, se necessario.

Ipecacuana sciroppo emetico

CARATTERI

Liquido limpido, di colore rosso-bruno, di odore caratteristico di iodio.

IDENTIFICAZIONE

- A. A 10 ml della soluzione in esame aggiungere 5 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*. La soluzione si decolora.
- B. Alla soluzione decolorata, ottenuta nel saggio di identificazione A, aggiungere 1 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*. Si forma una colorazione violetta che persiste dopo aggiunta di 0,1 ml di *acido acetico R*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In un recipiente da 150 ml introdurre 5,0 ml della soluzione in esame, esattamente misurati, e diluire con *acqua depurata R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* fino a colorazione giallo pallido. Aggiungere alcune gocce di *amido soluzione R* e proseguire la titolazione fino a completa decolorazione della soluzione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 12,69 mg di I.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

IODIO E GLICEROLO SOLUZIONE

Iodio soluzione glicerica
Tintura di iodio e glicerina

La soluzione di iodio e glicerolo soddisfa anche ai requisiti definiti nelle monografie Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927) e Preparazioni oromucosali (1807).

DEFINIZIONE

La soluzione di iodio e glicerolo ha la seguente composizione:

<i>Iodio soluzione cutanea</i>	50,0 g
<i>Glicerolo 85 per cento q.b. a</i>	100 g

Contenuto di iodio (I): non meno del 3,32 per cento e non più del 3,68 per cento.

CARATTERI

Liquido limpido, di colore rosso-bruno.

IDENTIFICAZIONE

- A. Dibattere alcuni millilitri della preparazione con *cloroformio R*: dopo separazione lo strato organico è colorato in violetto.
- B. Diluire alcuni millilitri della preparazione con 10-15 ml di *acqua R* ed aggiungere alcune gocce di *salda d'amido R*: si produce una colorazione violetta.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In un becher da 150 ml introdurre 4 g della preparazione in esame, esattamente pesati, e diluire a 30 ml circa con *acqua depurata R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* fino a colorazione giallo pallido; aggiungere alcune gocce di *amido soluzione R* e continuare la titolazione fino a completa decolorazione della soluzione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 12,69 mg di I.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce e dal calore.

IPECACUANA SCIROPPO EMETICO

Lo sciroppo emetico di ipecacuana soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo emetico di ipecacuana ha la seguente composizione:

<i>Ipecacuana estratto fluido</i>	70 g
<i>Acido cloridrico</i>	2,5 ml
<i>Glicerolo</i>	100 ml
<i>Saccarosio</i>	500 g
<i>Acqua depurata q.b. a</i>	1000 ml

Contenuto di alcaloidi totali espressi come emetina (C₂₉H₄₀N₂O₄): non meno dello 0,13 per cento *m/V* e non più dello 0,14 per cento *m/V*.

CARATTERI

Liquido sciropposo limpido.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GR* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. A 8 ml di preparazione, aggiungere 5 ml di *acido solforico diluito R* e 5 ml di *acqua R* ed estrarre con due porzioni successive da 10 ml ciascuna di *cloroformio R*; scartare la fase cloroformica. Alcalinizzare con *ammoniaca diluita R1* ed estrarre con quattro porzioni successive da 10 ml ciascuna di *cloroformio R*. Evaporare gli estratti cloroformici riuniti e riprendere il residuo con 20 ml di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 mg di *emetina cloridrato SCR* e 6 mg di *cefelina cloridrato SCR* in *metanolo R* e diluire a 20 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande da 20 mm per 3 mm circa, 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm circa usando una miscela di 93 volumi di *cloroformio R*, 6,5 volumi di *metanolo R* e 0,5 volumi di *ammoniaca R*. Lasciar seccare la lastra all'aria fino a scomparsa dell'odore dovuto ai solventi, spruzzare 10 ml circa di *iodio soluzione cloroformica R* e riscaldare a 60 °C per 10 min. Esaminare alla luce ultravioletta a 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta solo le due macchie principali corrispondenti rispettivamente a quelle del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 25,0 ml di preparazione, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 3 ml di *acido solforico diluito R*; estrarre con tre porzioni successive da 10 ml ciascuna di *cloroformio R*. Lavare ciascun estratto cloroformico con la stessa miscela costituita da 20 ml di *acido solforico 0,05 M* e 4 ml di *alcool R* che viene successivamente riunita alla rimanente soluzione acida. Alcalinizzare la soluzione ed i lavaggi acidi riuniti con *ammoniaca diluita R1* ed estrarre con porzioni successive di *cloroformio R* fino ad estrazione completa degli alcaloidi. Lavare ciascun estratto cloroformico con gli stessi 10 ml di *acqua R* che vengono gettati. Evaporare a secco gli estratti cloroformici riuniti, aggiungere 2 ml di *alcool R* ed evaporare di nuovo a secco con leggero riscaldamento finale in corrente di aria. Disciogliere il residuo in 2 ml di *alcool R* previamente neutralizzato, aggiungere 10,0 ml di *acido solforico 0,01 M* e titolare con *sodio idrossido 0,02 M* utilizzando come indicatore *rosso metile soluzione R*.

1 ml di *acido solforico 0,01 M* equivale a 4,806 mg di $C_{29}H_{40}N_2O_4$.

CONSERVAZIONE

In un recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

ISONIAZIDE COMPRESSE

Le compresse di isoniazide soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di isoniazide contengono *Isoniazide* in adeguati eccipienti.

Contenuto di isoniazide ($C_6H_7N_3O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di isoniazide, con 25 ml di *acqua R*, filtrare e concentrare il filtrato a circa 10 ml. La soluzione ottenuta soddisfa alla seguente reazione di identificazione:

Ad un volume di soluzione, corrispondente a circa 100 mg di isoniazide, aggiungere 10 ml di una soluzione calda (10 g/l) di *vanillina R*. Lasciare a riposo e sfregare le pareti della provetta con una bacchetta di vetro. Si forma un precipitato giallo che, dopo ricristallizzazione da 5 ml di *alcool al 70 per cento V/V R* ed essiccamento a 100-105 °C, fonde (2.2.14) tra 226 °C e 231 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 250 mg di isoniazide, con 25 ml di *acqua R*, filtrare e lavare il residuo con *acqua R*. Riunire il filtrato e le acque di lavaggio e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. A 20 ml della soluzione ottenuta aggiungere 50 ml di *acqua R*, 20 ml di *acido cloridrico R*, 200 mg di *potassio bromuro R* e 0,3 ml di *etossicrisoidina soluzione R*. Titolare lentamente con *potassio bromato 0,0167 M* fino a scomparsa del colore rosso.

1 ml di *potassio bromato 0,0167 M* equivale a 3,429 mg di $C_6H_7N_3O$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 100 mg o 200 mg di isoniazide.

ISONIAZIDE SCIROPPO

Lo sciroppo di isoniazide soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di isoniazide contiene *Isoniazide* in adatto veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di isoniazide ($C_6H_7N_3O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido sciropposo limpido.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 100 mg di isoniazide, aggiungere 10 ml di una soluzione (10 g/l), calda, di *vanillina R*. Lasciare a riposo e sfregare le pareti della provetta con una bacchetta di vetro. Si forma un precipitato giallo che dopo ricristallizzazione da 5 ml di *alcol al 70 per cento V/V R* ed essiccamento a 100-105 °C, fonde (2.2.4) tra 226 °C e 231 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a 50 mg di isoniazide, aggiungere 50 ml di *acqua R*, 20 ml di *acido cloridrico R*, 200 mg di *potassio bromuro R* e 0,3 ml di *etossicrisoidina soluzione R*. Titolare lentamente con *potassio bromato 0,0167 M* fino a scomparsa del colore rosso.

1 ml di *potassio bromato 0,0167 M* equivale a 3,429 mg di $C_6H_7N_3O$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene l'1,0 per cento m/V di isoniazide.

ISOPRENALINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Isoprenalina cloridrato fiale

La preparazione iniettabile di isoprenalina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di isoprenalina è una soluzione sterile e apirogena contenente lo 0,02 per cento m/V di *Isoprenalina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Preparazione: in corrente di *azoto R* disciogliere l'*Isoprenalina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili* e sterilizzare per filtrazione. Ripartire la soluzione, in corrente di *azoto R*, in fiale da 1 ml previamente sterilizzate.

Può contenere un idoneo stabilizzante.

Contenuto di isoprenalina cloridrato ($C_{11}H_{18}ClNO_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o di colore lievemente paglierino.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Utilizzare la preparazione iniettabile.

Soluzione di riferimento. Soluzione (0,2 g/l) di *isoprenalina cloridrato SCR* in una miscela di 8 volumi di *metanolo R* e 2 volumi di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm circa usando una miscela di 4 volumi di *ammoniacca R*, 16 volumi di *acqua R*, 30 volumi di *2-propa-nolo R* e 50 volumi di *etile acetato R*. Lasciar seccare la lastra all'aria fino a scomparsa dell'odore dovuto ai solventi, esporre per alcuni minuti in atmosfera satura di *dietilammina R*, spruzzare con *nitroanilina diazotata soluzione R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 2,5 e 3,0.

Endotossine batteriche. Non più di 250 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,02 per cento *m/V* di isoprenalina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di soluzione in esame esattamente misurata e corrispondente a 2 mg circa di isoprenalina cloridrato aggiungere, nell'ordine, 10 ml di *acqua R*, 0,5 ml di *ferro(-oso) solfato-citrato soluzione R* e 2 ml di *tampone glicina soluzione a pH 11,3 R*, agitare, lasciare a riposo per 20 min e diluire a 25,0 ml con *acqua R*.

Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento nello stesso modo utilizzando 20 ml di una soluzione (0,1 g/l) di *isoprenalina cloridrato SCR*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle soluzioni al massimo di assorbimento a 540 nm utilizzando come bianco una soluzione ottenuta a partire da una quantità di *acqua R* al posto della stessa quantità di soluzione in esame. Calcolare il contenuto di $C_{11}H_{18}ClNO_3$ dalle assorbanze misurate e dalla concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

LIDOCAINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Lidocaina cloridrato fiale

La preparazione iniettabile di lidocaina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di lidocaina è una soluzione sterile avente le composizioni seguenti:

<i>Lidocaina cloridrato</i>	50 mg	200 mg
<i>Sodio cloruro</i>	30 mg	60 mg
<i>Acqua per preparazioni iniettabili</i>		
q.b.a	5 ml	10 ml

Contenuto di lidocaina cloridrato ($C_{14}H_{23}ClN_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Ad un volume di preparazione, corrispondente a circa 300 mg di lidocaina cloridrato, aggiungere 2 ml di *sodio idrossido M* ed estrarre con quattro porzioni da 15 ml ciascuna di *cloroformio R*. Evaporare a secco, in corrente di aria calda, gli estratti cloroformici riuniti. Il residuo fonde (2.2.14) tra 66 °C e 69 °C.
- Disciogliere 0,1 g del residuo ottenuto nella reazione precedente in 1 ml di *alcool R* agitando: si forma un precipitato verde-azzurro.
- Ad un volume di preparazione, corrispondente a 0,1 g di lidocaina cloridrato, aggiungere 10 ml di *acido picrico soluzione R*. Il precipitato formatosi, lavato con acqua ed essiccato a 105 °C, fonde (2.2.14) a circa 230 °C.
- La soluzione dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 6,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 11 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione all'1 per cento *m/V* di lidocaina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Prelevare un volume di preparazione esattamente misurato e corrispondente a circa 250 mg di lidocaina cloridrato ed evaporare a secco. Solubilizzare il residuo in *acido acetico R* e aggiungere 10 ml di *mercurio acetato soluzione R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, usando come indicatore 0,05 ml di *cristal violetto soluzione R*. 1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 27,08 mg di $C_{14}H_{23}ClN_2O$.

LIDOCAINA PREPARAZIONE SEMISOLIDA PER APPLICAZIONE CUTANEA

La preparazione semisolida per applicazione cutanea di lidocaina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La lidocaina preparazione semisolida per applicazione cutanea contiene *Lidocaina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Lidocaina e idrocortisone preparazione semisolida per applicazione cutanea

Contenuto di lidocaina cloridrato ($C_{14}H_{23}ClN_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione di consistenza pastosa, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce.

- A. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 300 mg circa di lidocaina cloridrato, aggiungere 50 ml di *acqua R*. Agitare, aggiungere 4 ml di *ammoniaca diluita RI* ed estrarre con quattro porzioni ciascuna da 50 ml di *cloroformio R*. Evaporare a secco gli estratti cloroformici riuniti. Disciogliere il residuo con *esano R* ed essiccare a pressione ridotta su *gel di silice R* per 24 h. Il residuo fonde (2.2.14) tra 66 °C e 69 °C.
- B. Disciogliere 0,1 g del residuo ottenuto nella reazione precedente in 1 ml di *alcool R* agitando: si forma un precipitato verde-azzurro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a circa 25,0 mg di lidocaina cloridrato, aggiungere 15 ml di *acqua R* e 1 ml di *ammoniaca diluita RI*; estrarre con quattro porzioni da 20 ml ciascuna di *cloroformio R*. Evaporare a piccolo volume in corrente di aria calda gli estratti cloroformici riuniti. Aggiungere 25,0 ml di *acido solforico 0,005 M* prima che siano scomparse le ultime tracce di cloroformio e continuare quindi l'evaporazione del cloroformio. Titolare l'eccesso di acido con *sodio idrossido 0,01 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido solforico 0,005 M* equivale a 2,708 mg di $C_{14}H_{23}ClN_2O$.

CONSERVZIONE

In adatto contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la forma farmaceutica (crema o unguento).

La preparazione contiene il 2 per cento m/m di lidocaina cloridrato.

LIDOCAINA E IDROCORTISONE PREPARAZIONE SEMISOLIDA PER APPLICAZIONE CUTANEA

Lidocaina cloridrato e idrocortisone acetato
unguento, crema.

La preparazione semisolida per applicazione cutanea di lidocaina e idrocortisone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La preparazione semisolida per applicazione cutanea di lidocaina e idrocortisone contiene l'1,5 per cento m/m di *Lidocaina cloridrato* e l'1,0 per cento m/m di *Idrocortisone acetato* in adeguati eccipienti.

Può contenere antimicrobici.

Contenuto di lidocaina cloridrato ($C_{14}H_{23}ClN_2O \cdot H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di idrocortisone acetato ($C_{23}H_{32}O_6$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione semisolida, omogenea, di consistenza pastosa.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione Quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Lidocaina cloridrato. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Pesare esattamente una quantità di preparazione, corrispondente a 8 mg circa di lidocaina cloridrato, e diluire a 50,0 ml con la fase mobile. Agitare su agitatore magnetico per 5 min, scaldando a 45 °C, sonicare per 10 min in un bagno ad ultrasuoni fino a completa dispersione e filtrare (0,45 µm).

Soluzione di riferimento. Pesare esattamente circa 75 mg di *lidocaina cloridrato SCR*, disciogliere in *acqua R* e

diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 5 ml della soluzione ottenuta a 50,0 ml con la fase mobile e filtrare (0,45 µm).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una precolonna di acciaio inossidabile lunga 7,5 mm e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm) e una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto, una miscela di 30 volumi di *acetone nitrile R* e 70 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 3,0 RI*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare separatamente 100 µl di ciascuna soluzione. Il saggio è valido solo se il tempo di ritenzione del picco principale della soluzione in esame è simile a quello del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Calcolare il contenuto percentuale di $C_{14}H_{23}ClN_2O \cdot H_2O$.

Idrocortisone acetato. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Pesare esattamente una quantità di preparazione, corrispondente a 3 mg circa di idrocortisone acetato, e diluire a 100 ml con la fase mobile. Agitare su agitatore magnetico per 5 min, scaldando a 45 °C, sonicare per 10 min in un bagno ad ultrasuoni fino a completa dispersione e filtrare (0,45 µm).

Soluzione di riferimento. Pesare esattamente circa 50 mg di *idrocortisone acetato SCR*, disciogliere in *metanolo R* e portare a 100,0 ml con lo stesso solvente. Trasferire 5 ml della soluzione ottenuta in un matraccio tarato da 100,0 ml, portare a volume con la fase mobile e filtrare (0,45 µm).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una precolonna di acciaio inossidabile lunga 7,5 mm e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto, una miscela di 60 volumi di *acqua R* e 40 volumi di *acetone nitrile R*,

- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 240 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare separatamente 20 µl di ciascuna soluzione. Il saggio è valido solo se il tempo di ritenzione del picco principale della soluzione in esame è simile a quello del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Calcolare il contenuto percentuale di $C_{23}H_{32}O_6$.

CONSERVAZIONE

In adatto contenitore, al riparo dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto,
- la specifica forma farmaceutica (crema o unguento).

LITIO CARBONATO CAPSULE

Le capsule di litio carbonato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di litio carbonato contengono *Litio carbonato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di litio carbonato (Li_2CO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere bianca.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente il contenuto di alcune capsule.

- A. Una piccola quantità di polvere, inumidita con *acido cloridrico R* dà, alla fiamma non luminosa, un'intensa colorazione rosso-carminio.
- B. La polvere dà la reazione dei carbonati (2.3.I).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Macrogol unguento base

Soluzione in esame. Polverizzare finemente il contenuto di non meno di 20 capsule. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 600 mg di litio carbonato, aggiungere 400 ml di *acqua R* e 5 ml di *acido cloridrico R*, agitare energicamente a lungo e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. A 10,0 ml di soluzione, eventualmente filtrata, aggiungere *acqua R* diluendo successivamente alla concentrazione richiesta (circa 10 µg/ml).

Soluzione di riferimento. A 30 mg di litio carbonato *R*, esattamente pesati, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 0,5 ml di *acido cloridrico R*, agitare fino a dissoluzione e diluire a 100,0 ml con *acqua R*; diluire, alla concentrazione richiesta, 20 ml di soluzione con *acqua R*.

Misurare l'intensità di emissione a 671 nm. Calcolare il contenuto di Li_2CO_3 contenuto nel campione in esame tenendo conto dell'intensità dell'emissione e della concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le capsule contengono 300 mg di litio carbonato.

LITIO CARBONATO COMPRESSE

Le compresse di litio carbonato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di litio carbonato contengono *Litio carbonato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di litio carbonato (Li_2CO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

A. Una piccola quantità di polvere, inumidita con *acido cloridrico R* dà, alla fiamma non luminosa, un'intensa colorazione rosso-carminio.

B. La polvere dà la reazione dei carbonati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 600 mg di litio carbonato, aggiungere 400 ml di *acqua R* e 5 ml di *acido cloridrico R*, agitare energicamente a lungo e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. A 10,0 ml di soluzione, eventualmente filtrata, aggiungere *acqua R* diluendo successivamente alla concentrazione richiesta (circa 10 µg/ml).

Soluzione di riferimento. A 30 mg di litio carbonato *R*, esattamente pesati, aggiungere 20 ml di *acqua R* e 0,5 ml di *acido cloridrico R*, agitare fino a dissoluzione e diluire a 100,0 ml con *acqua R*; diluire, alla concentrazione richiesta, 20 ml di soluzione con *acqua R*.

Misurare l'intensità di emissione a 671 nm. Calcolare il contenuto di Li_2CO_3 contenuto nel campione in esame tenendo conto dell'intensità dell'emissione e della concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 300 mg di litio carbonato.

MACROGOL UNGUENTO BASE

Polietilenglicoli unguento base

L'unguento base di macrogol soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento base ha la seguente composizione:

<i>Macrogol</i> (4000)	40 g
<i>Macrogol</i> (400)	60 g

Può contenere conservanti.

Preparazione: aggiungere il *Macrogol* (4000) al *Macrogol* (400), scaldando sino a fusione della parte solida e continuando ad agitare sino a raffreddamento.

CARATTERI

Unguento semisolido, omogeneo, bianco.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dal calore.

MACROGOL CETOSTEARILE ETERE CREMA E UNGUENTO BASE

Cetomacrogol crema base
Cetomacrogol crema base grassa
Cetomacrogol unguento base

La crema e l'unguento base di macrogol cetostearile etere soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento base ha la seguente composizione:

Macrogol cetostearile etere	6 g
Alcool cetostearilico	24 g
Vaselina bianca	50 g
Paraffina liquida	20 g

Può contenere antiossidanti e conservanti.

Preparazione: per preparare l'unguento base fondere insieme i componenti, agitando fino a raffreddamento.

Per preparare la crema base grassa mescolare l'unguento base con *Acqua depurata* in rapporto ponderale 3:1.

Per preparare la crema base mescolare l'unguento base con *Acqua depurata* in rapporto ponderale 3:7.

CARATTERI

Preparato bianco, omogeneo, semisolido.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

MAGNESIO CARBONATO E ACIDO CITRICO COMPRESSE

Limonata citro-magnesiaca compresse

Le compresse di magnesio carbonato e acido citrico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478)

DEFINIZIONE

Le compresse di magnesio carbonato e acido citrico hanno la seguente composizione per compressa:

Acido citrico anidro	3,50 g
Magnesio carbonato leggero	2,0 g
Saccarosio e eccipienti q.b.	

Contenuto di magnesio ossido (MgO): non meno del 40,0 per cento e non più del 45,0 per cento della quantità di *magnesio carbonato leggero* indicata.

Contenuto di acido citrico anidro (C₆H₈O₇): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. La polvere dà le reazioni caratteristiche dei carbonati, del magnesio e dei citrati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Disciogliere una compressa in 100 ml di *acqua R*. Il pH della soluzione è compreso tra 3,5 e 4,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Magnesio ossido. Pesare e polverizzare finemente almeno 20 compresse e prelevare una quantità di polvere esattamente pesata corrispondente a circa 80 mg di magnesio ossido. Sospendere la polvere in 20 ml di *acqua R* e 2 ml di *acido cloridrico diluito R*. Eseguire la titolazione complessometrica del magnesio titolando con *sodio edetato 0,1 M*.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 4,030 mg di MgO.

Citrati. Pesare e polverizzare finemente almeno 20 compresse e prelevare una quantità di polvere esattamente pesata corrispondente a circa 150 mg di acido citrico. Porre la polvere pesata in un matraccio da 100 ml, aggiungere 40 ml di una miscela di *metanolo R* ed *etere etilico R* in parti uguali. Scaldare a ricadere, raffreddare a temperatura ambiente e filtrare su carta lavando con 20 ml della stessa miscela. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, usando come indicatore 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 6,403 mg di C₆H₈O₇.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dall'umidità.

MAGNESIO CARBONATO E ACIDO CITRICO GRANULATO EFFERVESCENTE PER SOLUZIONE ORALE

Citrato di magnesia effervescente

Il granulato di magnesio carbonato e acido citrico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Granulati (0499).

DEFINIZIONE

Il granulato effervescente di magnesio carbonato e acido citrico ha la seguente composizione:

<i>Acido citrico anidro</i>	46,9 g
<i>Magnesio carbonato leggero</i>	10,2 g
<i>Sodio bicarbonato</i>	34,7 g
<i>Saccarosio</i>	8,2 g

Limone essenza q.b.

Contenuto di magnesio ossido (MgO): non meno del 40,0 per cento e non più del 45,0 per cento della quantità di *magnesio carbonato leggero* indicata.

Contenuto di acido citrico anidro (C₆H₈O₇): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Polvere o granulato bianco, di lieve sapore acidulo.

IDENTIFICAZIONE

- A. Pesare circa 4 g di polvere in un becher da 100 ml. Aggiungere 40 ml di *acqua R*, 1 ml di *acido acetico glaciale R*: si sviluppa anidride carbonica. Riscaldare fino a completa dissoluzione. Raffreddare. Trasferire il liquido in un pallone tarato da 100 ml, lavando accuratamente il becher. Portare a volume con *acqua R*. Prelevare 10 ml della soluzione ottenuta. Aggiungere 1 ml di *ammonio cloruro soluzione R* e 1 ml di *ammonio idrossido 6 M*. Aggiungere alcune gocce di *sodio fosfato dibasico soluzione R*. Si osserva la formazione di un precipitato bianco cristallino di fosfato ammonico-magnesiaco.
- B. La polvere dà le reazioni caratteristiche dei carbonati, del magnesio e dei citrati (2.3.I).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Magnesio ossido. In un matraccio da 100 ml pesare esattamente circa 6 g di polvere, finemente triturrata in

mortaio. Aggiungere 80 ml di *acqua R*, agitare e sonicare in modo da accelerare lo sviluppo di CO₂. Portare a volume e riscaldare fino a completa dissoluzione delle polveri. Raffreddare e portare di nuovo a volume, se necessario. Prelevare 10 ml della soluzione così ottenuta e trasferirli in un becher da 100 ml. Aggiungere 10 ml di *tampone soluzione a pH 10 R* e 50 mg di indicatore *nero mordente 11 R*. Titolare con *sodio edetato 0,1 M*, fino a viraggio da viola a blu deciso.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 4,030 mg di MgO.

Citrati. In un matraccio da 100 ml introdurre una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 150 mg di acido citrico. Aggiungere 40 ml di una miscela di *metanolo R* ed *etere etilico R* in parti uguali. Scaldare a ricadere, raffreddare a temperatura ambiente e filtrare su carta lavando con 20 ml della stessa miscela. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, usando come indicatore 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 6,403 mg di C₆H₈O₇.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi.

MAGNESIO CARBONATO E ACIDO CITRICO POLVERE PER SOLUZIONE ORALE

Limonata citro-magnesiaca polvere

La polvere di magnesio carbonato e acido citrico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per uso orale (1165)

DEFINIZIONE

La polvere di magnesio carbonato e acido citrico ha la seguente composizione:

<i>Acido citrico anidro</i>	38 g
<i>Magnesio carbonato leggero</i>	23 g
<i>Saccarosio</i>	39 g

Limone essenza q.b.

Contenuto di magnesio ossido (MgO): non meno del 40,0 per cento e non più del 45,0 per cento della quantità di *magnesio carbonato leggero* indicata.

Contenuto di acido citrico anidro (C₆H₈O₇): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Polvere o granulato bianco, di lieve sapore acidulo.

IDENTIFICAZIONE

- A. La polvere dà le reazioni caratteristiche dei carbonati, del magnesio e dei citrati (2.3.1).
- B. Pesare circa 4 g di polvere in un becher da 100 ml. Aggiungere 40 ml di *acqua R* e 1 ml di *acido acetico glaciale R*: si sviluppa anidride carbonica. Riscaldare fino a completa dissoluzione. Raffreddare. Trasferire il liquido in un pallone tarato da 100 ml, lavando accuratamente il becher. Portare a volume con *acqua R*. Prelevare 10 ml della soluzione ottenuta. Aggiungere 1 ml di *ammonio cloruro soluzione R* e 1 ml di *ammonio idrossido 6 M*. Aggiungere alcune gocce di *sodio fosfato dibasico soluzione R*. Si osserva la formazione di un precipitato bianco cristallino di fosfato ammonico-magnesiaco.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Magnesio ossido. In un matraccio da 100 ml pesare esattamente circa 6 g di polvere, finemente triturrata in mortaio. Aggiungere 80 ml di *acqua R*, agitare e sonicare in modo da accelerare lo sviluppo di CO₂. Portare a volume e riscaldare fino a completa dissoluzione delle polveri. Raffreddare e portare di nuovo a volume, se necessario. Prelevare 10 ml della soluzione così ottenuta e trasferirli in un becher da 100 ml. Aggiungere 10 ml di *tampone soluzione a pH 10 R* e 50 mg di indicatore *nero mordente 11 R*. Titolare con *sodio edetato 0,1 M*, fino a viraggio da viola a blu deciso.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 4,030 mg di MgO.

Citrati. Pesare esattamente una quantità di polvere corrispondente a circa 150 mg di acido citrico. Porre la polvere pesata in un matraccio da 100 ml, aggiungere 40 ml di una miscela di *metanolo R* ed *etere etilico R* in parti uguali. Scaldare a ricadere, raffreddare a temperatura ambiente e filtrare su carta lavando con 20 ml della stessa miscela. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, usando come indicatore 0,5 ml di *fenolftaleina soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 6,403 mg di C₆H₈O₇.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi.

MAGNESIO CLORURO CONCENTRATO STERILE

Magnesio cloruro soluzione da diluire

Il concentrato sterile di magnesio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di magnesio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 5,08 per cento *m/V* di *Magnesio cloruro esaidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di magnesio cloruro (MgCl₂·6H₂O): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 6,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 5,4 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Magnesio. Determinare mediante spettrofotometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Diluire 5 ml della soluzione in esame con 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Magnesio solfato concentrato sterile

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

MAGNESIO IDROSSIDO COMPRESSE MASTICABILI

Le compresse masticabili di magnesio idrossido soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse masticabili di magnesio idrossido contengono *Magnesio idrossido* in adeguati eccipienti.

Contenuto di magnesio idrossido ($\text{Mg}(\text{OH})_2$): non meno del 92,5 per cento e non più del 107,5 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Disciogliere una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 150 mg circa di magnesio idrossido, in 20 ml di *acido nitrico diluito R* e filtrare. Il filtrato, neutralizzato con *sodio idrossido soluzione diluita R*, dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.I).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente ad 1 g circa di magnesio idrossido, in 20 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R* e filtrare. Eseguire la titolazione complessometrica del magnesio (2.5.II) utilizzando 10,0 ml del filtrato.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 5,832 mg di $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 300 mg di magnesio idrossido.

MAGNESIO SOLFATO CONCENTRATO STERILE

Magnesio solfato fiale da diluire
Magnesio solfato soluzione da diluire

Il concentrato sterile di magnesio solfato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di magnesio solfato è una soluzione sterile ed apirogena contenente *Magnesio solfato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di magnesio solfato ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del magnesio (2.3.I).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei solfati (2.3.I).

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire la soluzione in esame 1 a 50 con *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione ottenuta è compreso tra 5,5 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 9 U.I./ml per una soluzione al 10 per cento *m/V*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

Il concentrato sterile contiene il 10 per cento m/V, il 20 per cento m/V o il 25 per cento m/V di magnesio solfato.

MANNITOLO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa di mannitolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di mannitolo è una soluzione sterile ed apirogena contenente *Mannitolo* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di mannitolo ($C_6H_{14}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Evaporare a secco un volume di soluzione equivalente a circa 1 g di mannitolo. Il residuo fonde (2.2.14) tra 165 °C e 170 °C.
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 25 mg di mannitolo, a 10 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *mannitolo SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di *mannitolo SCR* e 25 mg di *sorbitolo SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 17 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 20 volumi di *etile acetato R* e 70 volumi di *propanolo R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria e spruzzare con *acido 4-amminobenzoico soluzione R*. Seccare la lastra in una corrente di aria fredda fino all'eliminazione dell'acetone. Scaldare la lastra a 100 °C per 15 min. Lasciare raffreddare e spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *sodio periodato R*. Asciugare la lastra in una corrente di aria fredda. Scaldare la lastra a 100 °C per 15 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie nettamente separate.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH di una soluzione a concentrazione non superiore a 100 g/l è compreso tra 4,5 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 2 U.I./ml per la soluzione al 5 per cento m/V. Prima della determinazione diluire le soluzioni a concentrazione superiore al 5 per cento m/V.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di soluzione contenente 0,400 g di mannitolo a 100 ml con *acqua R*. Trasferire 10 ml della soluzione ottenuta in una beuta con tappo. Aggiungere 20,0 ml di una soluzione (21,4 g/l) di *sodio periodato R* e 2,0 ml di *acido solforico diluito R* e scaldare a b.m. esattamente per 15 min. Raffreddare e aggiungere 3 g di *sodio bicarbonato R* un poco alla volta e 25,0 ml di *sodio arsenito 0,1 M*. Miscelare. Aggiungere 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R* e lasciare a riposo per 15 min. Titolare con *iodio 0,05 M* fino a che appare la prima traccia di colore giallo. Eseguire una titolazione in bianco.

1 ml di *iodio 0,05 M* equivale a 1,822 mg di $C_6H_{14}O_6$.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi. La conservazione a temperatura inferiore a 20 °C può provocare la formazione di un precipitato cristallino che si scioglie per riscaldamento in acqua calda.

Mannitolo e sodio cloruro infusione endovenosa

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- che il precipitato eventualmente presente deve essere disciolto in acqua calda prima dell'uso,
- per le soluzioni con concentrazione superiore al 5 per cento "Soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione".

La soluzione contiene 50,0 g/l, 100,0 g/l o 180,0 g/l di mannitolo.

MANNITOLO E SODIO CLORURO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa di mannitolo e sodio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di mannitolo e sodio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 5 per cento *m/V* di Mannitolo e lo 0,45 per cento *m/V* di Sodio cloruro in Acqua per preparazioni iniettabili.

Contenuto di mannitolo ($C_6H_{14}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio cloruro ($NaCl$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando gel di silice *G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire un volume di soluzione, equivalente a 25 mg di mannitolo, a 10 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di mannitolo *SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 25 mg di mannitolo *SCR* e 25 mg di sorbitolo *SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 2 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 17 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 20 volumi di *etile acetato R* e 70 volumi di *propanolo R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria e spruzzare con *acido 4-amminobenzoico soluzione R*. Seccare la lastra in una corrente di aria fredda fino all'eliminazione dell'acetone. Scaldare la lastra a 100 °C per 15 min. Lasciare raffreddare e spruzzare con una soluzione (2 g/l) di *sodio periodato R*. Asciugare la lastra in una corrente di aria fredda. Scaldare la lastra a 100 °C per 15 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie nettamente separate.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,18 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mannitolo. Diluire una quantità di soluzione contenente 0,400 g di mannitolo a 100 ml con *acqua R*. Trasferire 10 ml della soluzione ottenuta in una beuta con tappo. Aggiungere 20,0 ml di una soluzione (21,4 g/l) di *sodio periodato R* e 2,0 ml di *acido solforico diluito R* e scaldare a b.m. per esattamente 15 min. Raffreddare e aggiungere 3 g di *sodio bicarbonato R* un poco alla volta e 25,0 ml di *sodio arsenito 0,1 M*. Miscelare. Aggiungere 5 ml di una soluzione (200 g/l) di *potassio ioduro R* e lasciare a riposo per 15 min. Titolare con *iodio 0,05 M* fino a che appare la prima traccia di colore giallo. Eseguire una titolazione in bianco.

1 ml di *iodio 0,05 M* equivale a 1,822 mg di $C_6H_{14}O_6$.

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Cloruri. A 25,0 ml di soluzione, esattamente misurati, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 5,844 mg di NaCl.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione, non superiore a 150 mmoli di sodio/h.

MANNITOLO E SORBITOLO SOLUZIONE PER IRRIGAZIONE

La soluzione per irrigazione di mannitolo e sorbitolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni per irrigazione (1116).

DEFINIZIONE

La soluzione per irrigazione di mannitolo e sorbitolo è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,54 per cento *m/V* di *Mannitolo* e il 2,7 per cento *m/V* di *Sorbitolo* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di mannitolo ($C_6H_{14}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sorbitolo ($C_6H_{14}O_6$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. A 3 ml di una soluzione (100 g/l) di *pirocatecolo R*, preparata di recente, aggiungere 6 ml di *acido solforico R*. Raffreddare in acqua ghiacciata. A 3 ml

della miscela raffreddata aggiungere 3 ml della soluzione in esame e scaldare leggermente a fiamma diretta per circa 30 s. Si sviluppa una colorazione rosa.

B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il tempo di ritenzione dei picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile a quello dei picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5 e 7.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mannitolo e sorbitolo. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Utilizzare la soluzione in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 0,054 g di *mannitolo SCR* e 0,270 g di *sorbitolo SCR* in *acqua R* e diluire a 10,0 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna ad esclusione ionica per acidi organici lunga 30 cm e con diametro interno di 7,8 mm, impaccata con una resina divinilbenzenica-stirenica solfonata in fase idrogenionica (9 μ m),
- come fase mobile, ad un flusso di 0,6 ml/min, *acqua R* degassata,
- un rivelatore ad indice di rifrazione,
- un registratore.

Mantenere la colonna a 85 °C. Iniettare separatamente e per due volte 20 μ l di ciascuna soluzione. Determinare il contenuto di mannitolo e di sorbitolo confrontando i picchi corrispondenti ottenuti con la soluzione in esame e con la soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH.

MENTOLO POLVERE CUTANEA

Talco mentolato polvere aspersione

La polvere cutanea di mentolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Polveri per applicazione cutanea* (1166).

DEFINIZIONE

La polvere di mentolo contiene *Mentolo racemico* disperso in *Talco*.

Contenuto di mentolo (C₁₀H₂₀O): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità prescritta o indicata in etichetta.

CARATTERI

Polvere bianca, di aspetto omogeneo, con odore caratteristico di mentolo.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale nel cromatogramma ottenuto nella soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione, al picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame. Pesare 0,50 g di prodotto in esame e trasferirli con *acetone R* in un pallone tarato da 50 ml; portare a volume con lo stesso solvente. Agitare su agitatore magnetico per 5 min, sonicare per 10 min e filtrare (0,22 µm). Utilizzare il filtrato ottenuto.

Soluzione di riferimento. Pesare esattamente circa 100 mg di *mentolo SCR* in un pallone tarato da 50 ml, disciogliere con *acetone R* e portare a volume con lo stesso solvente. Trasferire 2 ml della soluzione ottenuta in un pallone tarato da 50 ml e portare a volume con *acetone R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa impaccata con il 20 per cento di *macrogol 20000 R*,
- *azoto per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 1 ml/min,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 120 °C, quella della camera di iniezione a 220 °C e quella del rivelatore a 280 °C. Iniettare separatamente 2 µl di ciascuna soluzione per almeno due volte.

Il saggio è valido solo se il tempo di ritenzione del picco principale (mentolo) del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile a quello del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

Calcolare il contenuto percentuale di mentolo:

$$\text{percentuale } m/m = \frac{A_c \times P_{std} \times 100}{A_{std} \times P_c \times 25}$$

A_c = area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame,

P_{std} = massa in milligrammi del mentolo di riferimento,

A_{std} = area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento,

P_c = massa del campione in milligrammi.

CONSERVAZIONE

In un recipiente ben chiuso.

La polvere cutanea contiene l'1 per cento m/m di mentolo racemico.

MENTOLO COMPOSTO SOLUZIONE PER SUFFUMIGI

Alcool mentolato composto

*La soluzione per suffumigi di mentolo composto soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni per inalazione* (0671).*

DEFINIZIONE

La soluzione per suffumigi di mentolo composto ha la seguente composizione:

<i>Eucalipto essenza</i>	60 g
<i>Mentolo racemico</i>	20 g
<i>Timolo</i>	10 g
<i>Etanolo 96 per cento</i>	40 g

Preparazione: disciogliere il *Timolo*, il *Mentolo racemico*, previamente polverizzati, e l'*Eucalipto essenza* nell'*Etanolo 96 per cento*. Operare a temperatura ambiente.

CARATTERI

Liquido limpido, di colore leggermente giallo e di intenso odore caratteristico del mentolo e dell'essenza di eucalipto.

CONSERVAZIONE

In recipiente di vetro scuro, ben chiuso con chiusura di materiale idoneo, protetto dalla luce e dal calore.

MERBROMINA SOLUZIONE CUTANEA

La soluzione cutanea di merbromina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di merbromina contiene *Merbromina* in *Acqua depurata*.

Contenuto di mercurio (Hg): non meno del 24,0 per cento e non più del 27,0 per cento della quantità di merbromina indicata in etichetta.

Contenuto di bromo (Br): non meno del 16,0 per cento e non più del 22,0 per cento della quantità di merbromina indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, di colore rosso, con fluorescenza giallo-verde.

IDENTIFICAZIONE

- La preparazione in esame, opportunamente diluita, presenta una fluorescenza giallo-verde.
- Diluire alcuni millilitri della preparazione in esame a 20 ml con *acqua R*, aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R*: si ottiene un precipitato rosso-arancione.
- Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 0,5 g di merbromina, aggiungere 5 g di *potassio idrossido R* e 1 g di *zinco polvere R*. Riscaldare per 5 min. Filtrare il residuo e lavare con *acqua R*; per riscaldamento del residuo si ottiene un sublimato di mercurio metallico.
- Evaporare a secco una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 0,2 g di merbromina. Calcinare per 5 min con 1 g di *sodio carbonato R*. Il residuo dà le reazioni caratteristiche (2.3.1) dei bromuri.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mercurio. Introdurre in una beuta, con tappo a smeriglio, da 150 ml una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 0,5 g circa di merbromina e aggiungere 10 ml circa di *acqua R* deionizzata, 8 ml di *acido acetico glaciale R*, 20 ml di *clorofornio R* e 10 ml, esattamente misurati, di *iodio 0,05 M*. Chiudere la beuta e lasciare a riposo agitando per almeno 1 h. Titolare lo iodio in eccesso con *sodio tiosolfato 0,05 M* usando come indicatore *amido soluzione R*. 1 ml di *iodio 0,05 M* equivale a 10,03 mg di Hg.

Bromo. Evaporare a secco, in una capsula di porcellana, una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 0,5 g circa di merbromina. Seccare il residuo in stufa; aggiungere 2 g di *potassio nitrato R* e 3 g di *sodio carbonato anidro R*. Mescolare, ricoprire il miscuglio con 3 g di una miscela in parti eguali di *potassio carbonato R* e *sodio carbonato anidro R* e calcinare fino a fusione. Raffreddare, disciogliere la massa fusa in 80 ml di *acqua R* deionizzata calda e trasferire la soluzione ottenuta in una beuta. Acidificare lentamente con 10 ml di *acido nitrico fumante R*, aggiungere 25 ml di *argento nitrato 0,1 M* e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* usando come indicatore *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R1*. Effettuare una prova in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 7,99 mg di Br.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

La soluzione contiene il 2 per cento m/V di merbromina.

MERCURIO OSSIDO GIALLO PREPARAZIONE OFTALMICA SEMISOLIDA

Mercurio ossido giallo pomata oftalmica

La preparazione oftalmica semisolida di mercurio ossido giallo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

La preparazione oftalmica semisolida di mercurio ossido giallo è una preparazione sterile avente la composizione seguente:

<i>Mercurio ossido giallo</i>	10 g
<i>Paraffina liquida</i>	100 g
<i>Vaselina bianca</i>	890 g

Metadone sciroppo

Contenuto di mercurio ossido giallo (HgO): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: disperdere con tecnica aseptica il *Mercurio ossido giallo*, opportunamente micronizzato e sterilizzato, nella *Paraffina liquida* previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h. Aggiungere quindi, sotto agitazione, la *Vaselina bianca fusa*, previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h, mescolando fino a completa solidificazione ed omogenizzazione.

CARATTERI

Preparazione di consistenza pastosa, filante, omogenea, di colore arancione.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 100 mg circa di mercurio ossido giallo, aggiungere 10 ml di *acido cloridrico diluito R*, scaldare, agitare per qualche min, raffreddare e filtrare. La soluzione dà la reazione caratteristica dei sali mercurici (2.3.1).
- B. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 200 mg circa di mercurio ossido giallo, aggiungere 20 ml di *cloroformio R*, agitare per qualche min e filtrare. Disperdere il residuo in 5 ml di *acqua R* contenente 0,5 g di *acido ossalico R* e 0,5 ml di *ammoniaca diluita R2*. Scaldare a b.m. per 2 h, reintegrando l'acqua che evapora; il mercurio ossido giallo si trasforma in ossalato di mercurio bianco o bianco-giallastro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a circa 200 mg di mercurio ossido giallo, aggiungere 20 ml di *cloroformio R* e agitare fino a completa dispersione del preparato. Aggiungere 10 ml di *acido nitrico diluito R* e 20 ml di *acqua R*, agitare fino a completa dissoluzione dell'ossido di mercurio. Diluire con 50 ml di *acqua R* e titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* ad una temperatura non superiore a 15 °C in presenza di *ferro(-ico) ammonico solfato R*.

1 ml di *ammonio tiocianato 0,1 M* equivale a 10,83 mg di HgO.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dal calore.

La preparazione contiene anche il 2 per cento m/m di mercurio ossido giallo.

METADONE SCIROPPPO

Lo sciroppo di metadone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di metadone contiene lo 0,1 per cento *m/V* di *Metadone cloridrato* in adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di metadone cloridrato (C₂₁H₂₈ClNO): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido sciropposo limpido.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a circa 10 mg di metadone cloridrato, aggiungere 10 ml di *sodio carbonato soluzione R* ed estrarre con 20 ml di *etere R*. Evaporare a secco la soluzione eterea e riprendere il residuo con 10 ml di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Sospendere 10 mg di *metadone cloridrato SCR* in 0,5 ml di *sodio carbonato soluzione R* e diluire a 10 ml con *metanolo R*. Filtrare se necessario.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 30 volumi di *acido acetico glaciale R*, 60 volumi di *alcool R* e 10 volumi di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria, spruzzare con *iodoplatinico reattivo R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,0 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 10 mg circa di metadone cloridrato, aggiungere 15 ml di *acqua R*, acidificare (*tornasole cartina blu R*) con *acido solforico diluito R* ed estrarre con 10 ml di *etere di petrolio R1*. Separare la fase eterea ed estrarla con due porzioni successive, da 5 ml ciascuna, di *acqua R* che vengono aggiunte alla fase acquosa precedente. Alcalinizzare leggermente le fasi acquose riunite con una soluzione (200 g/l) di *sodio carbonato R* ed aggiungere 2 g di *sodio cloruro R*. Estrarre con tre porzioni successive rispettivamente da 30 ml, 15 ml e 15 ml di *etere esente da perossidi R*. Lavare gli estratti eteri riuniti con due porzioni successive da 5 ml ciascuna di *acqua R*. Estrarre le acque di lavaggio riunite con 5 ml di *etere esente da perossidi R* che vengono aggiunti agli estratti eteri precedentemente riuniti. Estrarre la soluzione eterea con due porzioni successive da 10 ml ciascuna di *acido cloridrico 0,02 M*; eliminare dagli estratti acidi riuniti ogni traccia di etere con una corrente di *azoto R* e diluire a 25,0 ml con *acido cloridrico 0,02 M*. Preparare contemporaneamente una soluzione di confronto disciogliendo 10 mg circa esattamente pesati di *metadone cloridrato SCR* in 25,0 ml di *acido cloridrico 0,02 M*. Determinare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni al massimo di assorbimento a 334 nm circa usando come riferimento *acido cloridrico 0,02 M*. Calcolare il contenuto di $C_{21}H_{28}ClNO$ tenendo conto dei valori delle assorbanze e delle concentrazioni delle due soluzioni.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

METILE SALICILATO UNGUENTO

L'unguento di metile salicilato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di metile salicilato contiene il 10 per cento m/m di *Metile salicilato* in *Vaselina bianca*.

Contenuto di metile salicilato ($C_8H_8O_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento bianco, omogeneo, di odore aromatico.

IDENTIFICAZIONE

Introdurre 5 g di unguento in una beuta da 100 ml con tappo a smeriglio; aggiungere 20 ml di *alcool R*, scaldare a b.m. agitando per 10 min. Separare mediante filtrazione lo strato alcoolico limpido. Sulla soluzione alcoolica ottenuta eseguire le seguenti identificazioni:

- A. Mescolare 0,25 ml di soluzione alcoolica con 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e scaldare a b.m. per 5 min. Aggiungere 3 ml di *acido solforico diluito R*: si forma un precipitato che, raccolto, lavato con *acqua R* ed essiccato a 100-105 °C ha un punto di fusione (2.2.14) compreso tra 156 °C e 161 °C.
- B. A 10 ml di soluzione alcoolica aggiungere 0,05 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R*: si sviluppa una colorazione violetta.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare esattamente circa 5 g di unguento ed introdurli in un pallone da 250 ml. Aggiungere 50 ml di *alcool R*, precedentemente neutralizzato con *sodio idrossido 0,1 M* in presenza di 0,05 ml di *rosso fenolo soluzione R*. Aggiungere 50,0 ml di *sodio idrossido 0,1 M* alla soluzione neutralizzata e scaldare a b.m., a ricadere, per 30 min. Raffreddare e titolare con *acido cloridrico 0,1 M*. Calcolare il volume di *sodio idrossido 0,1 M* utilizzato nella saponificazione. Eseguire una prova in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 15,21 mg di $C_8H_8O_3$.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce e lontano da fonti di calore.

METILPREDNISOLONE COMPRESSE

Le compresse di metilprednisolone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di metilprednisolone contengono *Metilprednisolone* in adeguati eccipienti.

Metilprednisolone compresse

Contenuto di metilprednisolone ($C_{22}H_{30}O_5$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 230 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 243 nm circa.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando appropriate lastre di gel di silice con un indicatore di fluorescenza che abbia un'intensità ottimale a 254 nm.

Soluzione in esame (a). Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare per 15 min una quantità di polvere, corrispondente a circa 25 mg di metilprednisolone, in una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *diclorometano R*. Diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi. Centrifugare e usare il liquido soprannatante.

Soluzione in esame (b). Trasferire 0,4 ml della soluzione ottenuta durante la preparazione della soluzione in esame (a) in una provetta di vetro, lunga 100 mm e del diametro di 20 mm, con tappo a smeriglio o di politetrafluoroetilene ed evaporare il solvente mediante leggero riscaldamento in corrente di *azoto R*. Aggiungere 2 ml di una soluzione al 15 per cento *V/V* di *acido acetico glaciale R* e 50 mg di *sodio bismutato R*. Chiudere la provetta e agitare la sospensione con un agitatore meccanico, al riparo dalla luce, per 1 h. Aggiungere 2 ml di una soluzione al 15 per cento *V/V* di *acido acetico glaciale R* e filtrare in un imbuto separatore da 50 ml, lavando il filtro con due porzioni, da 5 ml ciascuna, di *acqua R*. Agitare il filtrato limpido con 10 ml di *diclorometano R*. Lavare la fase organica con 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e con due porzioni, da 5 ml ciascuna, di *acqua R*. Disidratare su *sodio solfato anidro R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25 mg di *metilprednisolone SCR* in *metanolo R* e diluire a 5 ml con lo stesso solvente. Questa soluzione serve anche per preparare la soluzione di riferimento (b). Diluire 2 ml della soluzione a 10 ml con *diclorometano R*.

Soluzione di riferimento (b). Trasferire 0,4 ml della soluzione ottenuta durante la preparazione della soluzione di riferimento (a) in una provetta di

vetro, lunga 100 mm e del diametro di 20 mm, con tappo a smeriglio o di politetrafluoroetilene ed evaporare il solvente mediante leggero riscaldamento in corrente di *azoto R*. Aggiungere 2 ml di una soluzione al 15 per cento *V/V* di *acido acetico glaciale R* e 50 mg di *sodio bismutato R*. Chiudere la provetta e agitare la sospensione con un agitatore meccanico, al riparo dalla luce, per 1 h. Aggiungere 2 ml di una soluzione al 15 per cento *V/V* di *acido acetico glaciale R* e filtrare in un imbuto separatore da 50 ml, lavando il filtro con due porzioni, da 5 ml ciascuna, di *acqua R*. Agitare il filtrato limpido con 10 ml di *diclorometano R*. Lavare la fase organica con 5 ml di *sodio idrossido 1 M* e con due porzioni, da 5 ml ciascuna, di *acqua R*. Disidratare su *sodio solfato anidro R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 μ l della soluzione in esame (a) e della soluzione di riferimento (a) e 10 μ l della soluzione in esame (b) e della soluzione di riferimento (b), depositando le ultime due in piccole porzioni al fine di ottenere piccole macchie. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 5 volumi di *butanolo R* saturato con *acqua R*, 10 volumi di *toluene R* e 85 volumi di *eteri R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale in ciascuno dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni in esame è simile per posizione e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la corrispondente soluzione di riferimento. Spruzzare con *acido solforico soluzione alcoolica R* e scaldare a 120 °C per 15 min. Lasciar raffreddare. Esaminare la lastra alla luce del giorno e alla luce ultravioletta a 365 nm. La macchia principale in ciascuno dei cromatogrammi ottenuti con le soluzioni in esame è simile per posizione, colore alla luce del giorno, fluorescenza alla luce ultravioletta a 365 nm e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la corrispondente soluzione di riferimento. Le macchie principali dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame (b) e con la soluzione di riferimento (b) presentano un R_f nettamente superiore a quello delle macchie principali dei cromatogrammi ottenuti con la soluzione in esame (a) e con la soluzione di riferimento (a).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Sospendere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 10 mg di metilprednisolone, in 10 ml di *acqua R* ed estrarre con 4 porzioni successive da 100 ml, 50 ml, 50 ml, e 40 ml di *cloroformo R*.

mio R. Lavare gli estratti cloroformici riuniti con 10 ml di *acqua R* e diluire a 250 ml con *cloroformio R*. Evaporare a secco 25 ml di questa soluzione e al residuo aggiungere *alcool esente da aldeidi R* in modo da ottenere una soluzione contenente circa 40 µg per ml. Contemporaneamente, nelle stesse condizioni, preparare una soluzione di confronto di *metilprednisolone SCR*. In due palloncini tarati da 25 ml, introdurre rispettivamente 10 ml di ciascuna soluzione e 2 ml di *trifeniltetrazolio cloruro soluzione R*. Eliminare l'aria dai palloncini mediante una corrente di *azoto esente da ossigeno R*, aggiungere immediatamente 2 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* ed eliminare di nuovo l'aria mediante *azoto esente da ossigeno R*. Tappare i palloncini, mescolare agitando leggermente e lasciare a riposo su b.m. a 35 °C per 1 h. Raffreddare rapidamente, portare al volume di 25 ml con *alcool esente da aldeidi R*, mescolare e misurare le assorbanze delle soluzioni al massimo di assorbimento a 485 nm circa, utilizzando come bianco 10 ml di *alcool esente da aldeidi R* trattati alla stessa maniera.

Determinare la quantità di $C_{22}H_{30}O_5$ tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 4 mg o 8 mg di metilprednisolone.

METILROSANILINIO CLORURO SOLUZIONE CUTANEA

Cristal violetto soluzione

La soluzione cutanea di metilrosanilinio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di cristal violetto contiene l'1,0 per cento *m/m* di *Metilrosanilinio cloruro in Acqua depurata*.

Contenuto di metilrosanilinio cloruro ($C_{25}H_{30}ClN_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Soluzione limpida, di colore viola intenso.

IDENTIFICAZIONE

- A 0,1 ml di preparazione aggiungere 1 ml di *acido solforico concentrato R*; si ottiene una soluzione di colore arancio-rosso bruno. Diluire cautamente con *acqua R*. Il colore vira al bruno, poi al verde e quindi all'azzurro.
- B. Diluire 3 ml di preparazione a 100 ml con *etanolo R*. Diluire 1 ml della soluzione ottenuta a 100 ml con *etanolo R*. Esaminata tra 200 nm e 700 nm (2.2.25) la soluzione mostra quattro massimi di assorbimento rispettivamente a 209 nm, 250 nm, 303 nm e 589 nm.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH è compreso tra 3,6 e 4,8.

Pentametil-*p*-rosanilinio. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Diluire 3,0 ml di preparazione, corrispondente a 30,0 mg di metilrosanilinio cloruro, a 100,0 ml con *alcool R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 3,0 mg di *pentametil-*p*-rosanilinio cloruro SCR* in *alcool R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm, impaccata con *gel di silice ottadecilsilil per cromatografia R* (5 µm),
- come fase mobile ad una velocità di flusso di 1 ml per minuto, una miscela di *acido acetico glaciale R*, *acqua R* e *metanolo R* (10:190:800 *V/V/V*),
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 588 nm.

Iniettare separatamente 20 µl di ciascuna soluzione. Continuare la cromatografia per un tempo pari a 2,5 volte il tempo di ritenzione del picco principale. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, l'area del picco corrispondente al pentametil-*p*-rosanilinio non è maggiore dell'area del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (10 per cento).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Soluzione in esame. Diluire 1,0 g di preparazione, esattamente pesato, a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 10 ml della soluzione ottenuta a 500,0 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10,0 mg, esattamente pesati, di *metilrosanilinio cloruro SCR* in 50,0 ml di *alcool R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Metiltioninio preparazione iniettabile

Agitare per almeno 30 min fino a dissoluzione completa. Diluire 10,0 ml, esattamente misurati, della soluzione ottenuta a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 10,0 ml della soluzione di riferimento (a) a 50,0 ml con *acqua R*.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione in esame e della soluzione di riferimento (b) al massimo di assorbimento a 590 nm, usando come bianco *acqua R*.

Calcolare il contenuto percentuale di metilosanilinio cloruro dai valori dell'assorbanza e dalla concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

METILTIONINIO SOLUZIONE CUTANEA

Blu di metilene soluzione

La soluzione cutanea di metiltioninio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione cutanea di metiltioninio contiene *Metiltioninio cloruro* in *Acqua depurata*.

Può contenere un adeguato conservante.

Contenuto di metiltioninio cloruro calcolato come $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$: non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida di colore blu intenso.

IDENTIFICAZIONE

A. Mescolare a freddo 10 ml della soluzione con 10 ml di *ammoniaca R*, agitare con 10 ml di *etere R* e lasciare separare: lo strato acquoso inferiore deve mantenere inalterata la colorazione blu, mentre lo strato eterico superiore deve assumere una colorazione giallo-rossastra.

B. Diluire 2 ml della soluzione a 100 ml con *acido cloridrico diluito R*. Diluire 5 ml della soluzione risultante a 100 ml con *acido cloridrico diluito R*. La soluzione, esaminata tra 240 nm e 800 nm (2.2.25), mostra quattro massimi di assorbimento

compresi, rispettivamente, tra 255 nm e 260 nm, tra 285 nm e 290 nm, tra 675 nm e 685 nm e tra 740 nm e 750 nm.

C. Diluire 1 ml della soluzione a 10 ml con *acqua R*. Aggiungere 1 ml di *acido acetico glaciale R* e 0,5 g di *zinco polvere R*. Portare ad ebollizione. La soluzione diventa incolore. Filtrare ed agitare il filtrato. Il filtrato diventa blu a contatto con l'aria.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Trasferire 2 ml della soluzione in esame in un contenitore tarato da 100 ml e portare a volume con *acqua R*. Diluire 1 ml della soluzione ottenuta a 100 ml con *alcool al 50 per cento V/V R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione risultante al massimo di assorbimento a 663 nm, usando *alcool al 50 per cento V/V R* come bianco. L'assorbanza specifica è 2395.

CONSERVAZIONE

In un contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

La soluzione cutanea contiene l'1 per cento m/V di metiltioninio cloruro triidrato.

METILTIONINIO PREPARAZIONE INIETTABILE

Blu di metilene fiale

La preparazione iniettabile di metiltioninio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di metiltioninio è una soluzione sterile e apirogena avente la seguente composizione:

<i>Metiltioninio cloruro</i> corrispondente a metiltioninio cloruro triidrato	1 g
<i>Glucosio anidro</i> (o quantità equivalente di <i>Glucosio monoidratato</i>)	5 g
<i>Acqua per preparazioni iniettabili</i> q. b. a.	100 ml

Contenuto di metiltioninio cloruro calcolato come $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$: non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, di colore blu intenso.

IDENTIFICAZIONE

Diluire la preparazione con *acqua R* in modo da ottenere una soluzione contenente 1 mg/ml di metiltioninio cloruro.

- A. A 10 ml di soluzione aggiungere 1 ml di *acido acetico R* e 0,1 g di *zinco polvere R*, riscaldare portando all'ebollizione: la soluzione si decolora. Filtrare la soluzione ed esporla all'aria: lentamente ricompare la colorazione azzurra.
- B. A 10 ml di soluzione aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R*, poche gocce di *potassio bicromato 0,1 M*: si sviluppa una colorazione rosso-violetta e si forma un precipitato azzurro-violetto.
- C. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire 0,5 ml di preparazione con volume uguale di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 5 mg di *metiltioninio cloruro SCR* in 1 ml di una miscela di volumi uguali di *metanolo R* ed *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 10 cm usando una miscela di 3 volumi di *etanolo R*, 3 volumi di *acido acetico R* e 4 volumi di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 4,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 2,5 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione all'1 per cento *m/V* di metiltioninio cloruro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 20 mg circa di metiltioninio cloruro, a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 1 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *alcool al 50 per cento V/V R*. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione a

663 nm circa usando come riferimento *alcool al 50 per cento V/V R*. Calcolare il contenuto considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 2395.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

METRONIDAZOLO COMPRESSE

Le compresse di metronidazolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di metronidazolo contengono *Metronidazolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di metronidazolo (C₆H₉N₃O₃): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 150 mg di metronidazolo, aggiungere 10 ml di *acido solforico 0,5 M*, agitare e filtrare. Al filtrato aggiungere 10 ml di *acido picrico soluzione R* e lasciare a riposo; si forma un precipitato che, filtrato, lavato con *acqua R* ed essiccato a 105 °C per 1 h, fonde (2.2.14) a circa 150 °C.
- B. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 10 mg di metronidazolo, aggiungere 10 mg di *zinco granuli R*, 1 ml di *acqua R*, circa 0,25 ml di *acido cloridrico diluito R*. Scaldare a b.m. per 15 min e, quindi, raffreddare in bagno di ghiaccio. La soluzione dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Metronidazolo compresse vaginali

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare per qualche minuto una quantità di polvere, corrispondente a 200 mg di metronidazolo, con 5 ml di una miscela formata da uguali volumi di *cloroformio R* e *metanolo R* e filtrare. Usare il filtrato.

Soluzione di riferimento. Preparare una soluzione (0,2 g/l) di *2-metil-5-nitroimidazolo SCR* nella stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm circa usando come fase mobile *acetone R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e osservare alla luce ultravioletta a 254 nm. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale, nessuna di esse deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Estrarre una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 200 mg di metronidazolo, con porzioni successive di *acetone R*, scaldando leggermente, per complessivi 60 ml. Raffreddare gli estratti acetonicici riuniti e aggiungere 50 ml di *anidride acetica R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M* in *acido acetico R* in presenza di *cristal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 17,12 mg di $C_6H_9N_3O_3$.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 250 mg di metronidazolo.

METRONIDAZOLO COMPRESSE VAGINALI

Le compresse vaginali di metronidazolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni vaginali (1164).

DEFINIZIONE

Le compresse vaginali di metronidazolo contengono *Metronidazolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di metronidazolo ($C_6H_9N_3O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme, di forma particolare.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 150 mg di metronidazolo, aggiungere 10 ml di *acido solforico 0,5 M*, agitare e filtrare. Aggiungere al filtrato 10 ml di *acido picrico soluzione R* e lasciare a riposo. Si forma un precipitato che, filtrato, lavato con *acqua R* ed essiccato a 105 °C per 1 h, fonde (2.2.14) a circa 150 °C.
- B. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 10 mg di metronidazolo, aggiungere 10 mg di *zinco granuli R*, 1 ml di *acqua R*, 0,25 ml di *acido cloridrico R*, riscaldare a b.m. per 5 min. e, quindi, raffreddare in bagno di ghiaccio. Aggiungere 5 ml di *sodio nitrito soluzione R*, rimuovere l'eccesso di nitrito con *acido solfamico R*; aggiungere 0,5 ml della soluzione ottenuta da una miscela formata da 0,5 ml di *β-naftolo soluzione R* e 2 ml di una soluzione (200 g/l) di *sodio idrossido R*; si forma una colorazione rossa-arancione.

SAGGI

2 - Metil - 5 - nitroimidazolo. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare per qualche minuto una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 200 mg di metronidazolo, con 5 ml di una miscela formata da uguali volumi di *cloroformio R* e *metanolo R*, filtrare. Usare il filtrato.

Soluzione di riferimento. Preparare una soluzione (0,2 g/l) di *2-metil-5-nitroimidazolo SCR* nella stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm circa usando come fase mobile *acetone R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e osservare alla luce ultravioletta a 254 nm.

Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale, nessuna di esse deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame può presentare altre macchie dovute agli eccipienti.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse vaginali. Estrarre una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 200 mg di metronidazolo, con porzioni successive di *acetone R*, scaldando leggermente, per complessivi 60 ml. Raffreddare gli estratti acetonicici riuniti e aggiungere 50 ml di *anidride acetica R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M* in *acido acetico R* in presenza di *crystal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 17,12 mg di $C_6H_9N_3O_3$.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse vaginali contengono 500 mg di metronidazolo.

MIRRA E RATANIA SOLUZIONE GENGIVALE

Gengivario soluzione

La soluzione gengivale di mirra e ratania soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oromucosali (1807).

DEFINIZIONE

La soluzione gengivale di mirra e ratania contiene il 50 per cento *m/m* di *Mirra tintura* e il 50 per cento *m/m* di *Ratania tintura*.

Preparazione: miscelare le due tinture in parti uguali.

CARATTERI

Liquido limpido, di colore rosso-bruno, di odore caratteristico.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, di materiale non plastico, protetto dalla luce.

MORFINA CLORIDRATO PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di morfina cloridrato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di morfina cloridrato è una soluzione sterile ed apirogena di *Morfina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Preparazione: sciogliere, in corrente di *azoto R*, la *Morfina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*. Portare a volume, sterilizzare per filtrazione e ripartire in corrente di *azoto* e in condizioni asettiche in fiale da 1 ml, previamente sterilizzate. Alla soluzione può essere aggiunto un adatto antiossidante, in questo caso la sterilizzazione può essere effettuata in autoclave.

Contenuto di morfina cloridrato ($C_{17}H_{20}ClNO_3 \cdot 3H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Diluire un volume di preparazione corrispondente a 10 mg di morfina cloridrato a 100 ml con *acqua R*. Esaminata tra 250 nm e 350 nm (2.2.25), la soluzione mostra un solo massimo di assorbimento a 285 nm.
- Diluire un volume di preparazione corrispondente a 10 mg circa di morfina cloridrato a 5 ml con *acqua R* e aggiungere 0,15 ml di una soluzione (10 g/l) di *potassio ferricianuro R* preparata di recente e 0,05 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*. Si produce immediatamente una colorazione blu.
- Dà la reazione caratteristica (a) dei cloruri (2.3.1).
- Dà la reazione caratteristica degli alcaloidi (2.3.1).

Morfina cloridrato sciroppo

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 5,0.

Endotossine batteriche. Non più di 175 U.I. di endotossine per millilitro per una soluzione contenente 10 mg/ml di morfina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a 20 mg circa di morfina cloridrato, a 250,0 ml con *sodio idrossido 0,5 M*. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 298 nm, utilizzando come bianco *sodio idrossido 0,5 M*. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{20}ClNO_3 \cdot 3H_2O$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 69.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione contiene 10 mg/ml o 20 mg/ml di morfina cloridrato.

MORFINA CLORIDRATO SCIROPPPO

Lo sciroppo di morfina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di morfina contiene lo 0,1 per cento *m/V*, l'1,0 per cento *m/V* o il 2,0 per cento *m/V* di *Morfina cloridrato* in adatto veicolo sciropposo idroalcolico aromatizzato.

Contenuto di morfina cloridrato ($C_{17}H_{20}ClNO_3 \cdot 3H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Liquido sciropposo, limpido.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Utilizzare gli estratti organici riuniti e portati al volume di 50 ml, ottenuti come descritto alla Determinazione quantitativa.

Soluzione in esame (a). La soluzione organica ottenuta dall'estrazione dello sciroppo allo 0,1 per cento.

Soluzione in esame (b). Diluire 5 ml della soluzione organica ottenuta dall'estrazione dello sciroppo all'1 per cento a 50 ml con una miscela di 3 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *isopropanolo R*.

Soluzione in esame (c). Diluire 5 ml della soluzione organica ottenuta dall'estrazione dello sciroppo al 2 per cento a 100 ml con una miscela di 3 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *isopropanolo R*.

Soluzione di riferimento. Preparare una soluzione di *morfina cloridrato SCR* in *acqua R* ad una concentrazione simile a quella della preparazione in esame ed estrarre nelle stesse condizioni della preparazione. Diluire opportunamente gli estratti organici riuniti con una miscela di 3 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *isopropanolo R* fino ad ottenere una concentrazione di 0,4 g/l.

Deporre separatamente sulla lastra 25 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 85 volumi di *diclorometano R*, 10 volumi di *alcool al 95 per cento V/V R* e 5 volumi di *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria. Esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm ed esporre a vapori di *iodio R* per circa 1-2 h. I cromatogrammi, ottenuti con le soluzioni in esame (a), (b) e (c) presentano una macchia principale uguale, per posizione, dimensioni e colorazione a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Le soluzioni cloridriche ottenute come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminate tra 250 nm e 350 nm (2.2.25), mostrano un solo massimo di assorbimento a circa 284 nm.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della preparazione è compreso tra 4,5 e 6,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento. Operare sugli estratti organici riuniti e portati al volume di 50 ml come descritto alla Determinazione quantitativa.

Soluzione in esame (a). Concentrare 20 ml della soluzione organica ottenuta dall'estrazione dello sciroppo allo 0,1 per cento al volume di 2 ml.

Soluzione in esame (b). La soluzione organica ottenuta dall'estrazione dello sciroppo all'1 per cento.

Soluzione in esame (c). Diluire 20 ml della soluzione organica ottenuta dall'estrazione dello sciroppo al 2 per cento a 40 ml con una miscela formata da 3 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *isopropanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg, 200 mg e 400 mg di *morfina cloridrato SCR*, rispettivamente per lo sciroppo allo 0,1, all'1 e al 2 per cento, in 20 ml di una soluzione (0,01 g/l, 0,1 g/l e 0,2 g/l) di *codeina fosfato R*, in *acqua R* ed estrarre nelle stesse condizioni del corrispondente sciroppo, diluendo opportunamente gli estratti organici.

Deporre separatamente sulla lastra 25 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 85 volumi di *diclorometano R*, 10 volumi di *alcool al 95 per cento V/V R* e 5 volumi di *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria. Esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm ed esporre a vapori di *iodio R* per circa 1-2 h. Se nel cromatogramma ottenuto con le soluzioni in esame (a), (b) e (c) compare una eventuale macchia corrispondente alla codeina, essa non deve essere più intensa della macchia corrispondente nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Nessuna macchia oltre alla principale e a quella corrispondente alla codeina deve essere più intensa della macchia corrispondente alla codeina nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Il cromatogramma, ottenuto con la soluzione di riferimento presenta due macchie nettamente separate.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Acidificare 20 ml di preparazione con 5 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e agitare con 20 ml di *etere etilico R* ed eliminare la fase eterea. Aggiungere 20 ml di una miscela formata da 3 volumi di *cloroformio R* e 1 volume di *isopropanolo R*, alcalinizzare fino a pH 8-9 con qualche goccia di una soluzione (300 g/l) di *sodio carbonato R* ed estrarre. Ripetere l'estrazione con altre due porzioni, da 15 ml ciascuna, della stessa miscela di solventi. Riunire le fasi organiche filtrate su ovatta di cotone e diluire a 50,0 ml con la stessa miscela di solventi. Estrarre 25 ml di questa soluzione con 3 porzioni successive, da 30 ml ciascuna, di *acido cloridrico 0,1 M*. Riunire le fasi acquose e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Per gli sciroppi all'1 per cento e al 2 per cento, diluire ulteriormente 10,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Estrarre, contemporaneamente e nelle stesse condizioni, 20 ml di una soluzione di *morfina cloridrato SCR* in *acqua R* avente concentrazione simile a quella della preparazione in esame. Diluire gli estratti cloridrici riuniti, se necessario, con *acido cloridrico 0,1 M* fino ad ottenere una concentra-

zione di 0,1 g/l circa. Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle soluzioni al massimo di assorbimento di circa 284 nm, usando come bianco *acido cloridrico 0,1 M*.

Determinare il contenuto di morfina cloridrato nelle soluzioni in esame per confronto con l'assorbanza della soluzione di riferimento di morfina cloridrato.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

MORFINA SOLFATO COMPRESSE

Le compresse di morfina solfato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478)

DEFINIZIONE

Le compresse di morfina solfato contengono *Morfina solfato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di morfina solfato ($C_{34}H_{40}N_2O_{10}S \cdot 3H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 15 mg di morfina solfato, con 100 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e filtrare. Il filtrato esaminato tra 250 nm e 350 nm (2.2.25) mostra un solo massimo di assorbimento a 285 nm circa. Il valore dell'assorbanza specifica è di 41 circa.
- Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 15 mg di morfina solfato, con 100 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e filtrare. Il filtrato esaminato tra 265 nm e 350 nm (2.2.25) mostra un solo massimo di assorbimento a 298 nm circa. Il valore dell'assorbanza specifica è di 70 circa.
- Porre in una capsula di porcellana una quantità di polvere corrispondente a 1 mg circa di morfina solfato. Aggiungere 0,05 ml di *formaldeide R* e 0,5 ml di *acido solforico R*; si sviluppa una colorazione dal rosso porpora al violetto.

Morfina cloridrato e atropina preparazione iniettabile

D. Agitare una quantità di polvere corrispondente a 10 mg circa di morfina solfato con 5 ml di *acqua R* e filtrare. Al filtrato aggiungere 0,2 ml di *potassio ferricianuro soluzione R* e una goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1*; si sviluppa una colorazione azzurra.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Soluzione in esame. Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 15 mg circa di morfina solfato, aggiungere 80 ml di *acido cloridrico 0,01 M*, agitare per alcuni minuti e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Mescolare e filtrare.

Soluzione di riferimento. Una soluzione (0,150 g/l) di *morfina solfato SCR* in *acido cloridrico 0,01 M*.

Misurare l'assorbanza (2.2.25) di ciascuna soluzione al massimo di assorbimento a 285 nm. Determinare la quantità di morfina solfato dai valori dell'assorbanza e dalla concentrazione delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, protetta dalla luce.

Le compresse di morfina solfato contengono 20 mg, 40 mg o 60 mg di morfina solfato.

MORFINA CLORIDRATO E ATROPINA PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di morfina cloridrato e atropina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di morfina e atropina è una soluzione sterile contenente l'1,0 per cento *m/V* di *Morfina cloridrato* e lo 0,05 per cento *m/V* di *Atropina solfato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Preparazione: sciogliere in corrente di *azoto R* la *Morfina cloridrato* e l'*Atropina solfato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*. Portare a volume, filtrare, ripartire in corrente di *azoto R* in fiale. Sterilizzare in autoclave.

Contenuto di morfina cloridrato ($C_{17}H_{20}ClNO_3 \cdot 3H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di atropina solfato ($C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 10 mg circa di morfina cloridrato, aggiungere 1 ml di *ammoniaca diluita R1*. Estrarre con due porzioni da 5 ml ciascuna di *cloroformio R*. Seccare gli estratti cloroformici riuniti su *sodio solfato anidro R*, filtrare ed evaporare a secco. Disciogliere il residuo in 0,5 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (a). Trattare come la soluzione in esame 1 ml di una soluzione (0,5 g/l) di *atropina solfato R* in *acqua R*.

Soluzione di riferimento (b). Trattare come la soluzione in esame 1 ml di una soluzione (10 g/l) di *morfina cloridrato R* in *acqua R*.

Deporre separatamente 10 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando come fase mobile una miscela di 100 volumi di *metanolo R* e 1,5 volumi di *ammoniaca R*. Seccare la lastra in corrente di aria calda e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R*. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame mostra macchie corrispondenti per colore e posizione a quelle dei cromatogrammi ottenute con le due soluzioni di riferimento.

B. La preparazione dà le reazioni caratteristiche dei cloruri e dei solfati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 4,5.

Endotossine batteriche. Non più di 175 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione all'1 per cento *m/V* di morfina cloridrato e allo 0,05 per cento *m/V* di atropina solfato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Morfina cloridrato. Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 10 mg circa di morfina cloridrato, a 100,0 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) a 285 nm utilizzando come bianco *acqua R*. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{20}ClNO_3 \cdot 3H_2O$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 41.

Atropina solfato. Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 2,5 mg di atropina solfato, a 25,0 ml con *acqua R*. Evaporare a secco, a pressione ridotta, 1 ml di soluzione e riprendere il residuo con 0,25 ml di *acido nitrico fumante R*; evaporare a secco, a b.m. a 50 °C, fino a scomparsa di gas nitrosi. Riprendere quantitativamente il residuo con *dimetilformammide R* e portare al volume di 25,0 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 0,3 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R* e, se necessario, filtrare. Dopo 5 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 550 nm utilizzando come bianco 25 ml di una soluzione di *morfina cloridrato*, in concentrazione eguale a quella riscontrata nella relativa determinazione quantitativa, in *dimetilformammide R* e addizionati di 0,3 ml di *tetrametilammonio idrossido soluzione R*. Effettuare contemporaneamente e nelle stesse condizioni, una prova di confronto con *atropina solfato R*. Determinare il contenuto di $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S \cdot H_2O$, tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni della soluzione.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

NAFAZOLINA COLLIRIO SOLUZIONE

Nafazolina nitrato soluzione oftalmica

Il collirio di nafazolina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio di nafazolina è una soluzione isotonica sterile di *Nafazolina nitrato* in *Acqua depurata*.

Contenuto di nafazolina nitrato ($C_{14}H_{15}N_3O_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione corrispondente a 2,5 mg circa di nafazolina nitrato aggiungere 1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*; estrarre con 2 ml di *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento. A 10 ml di una soluzione (0,25 g/l) in *acqua R* di *nafazolina nitrato SCR* aggiungere 1 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*; estrarre con 2 ml di *cloroformio R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione cloroformica. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 100 volumi di *metanolo R* e 1,5 volumi di *ammoniaca R*. Seccare la lastra in corrente di aria calda. Esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Spruzzare con *iodoplatinico reattivo R* acidificato aggiungendo 2 ml di *acido cloridrico R* a 100 ml di reattivo. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione e colore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento sia alla luce ultravioletta che dopo sviluppo del colore.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 5,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 1 mg circa di nafazolina nitrato, a 50,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) a 280 nm usando come riferimento *acido cloridrico 0,01 M*. Calcolare il contenuto di $C_{14}H_{15}N_3O_3$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 250.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Il collirio contiene lo 0,025 per cento m/V di nafazolina nitrato.

NALOXONE PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di naloxone soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni parenterali (0520)*.

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di naloxone è una soluzione sterile contenente 20 µg/ml di *Naloxone cloridrato diidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Preparazione: sciogliere, in corrente di azoto *R*, il *Naloxone cloridrato diidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*. Portare a volume e filtrare. Ripartire in fiale in corrente di azoto *R* e sterilizzare in autoclave.

Contenuto di naloxone cloridrato diidrato (C₁₉H₂₂ClNO₄·2H₂O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento. Scaldare la lastra a 105 °C per 15 min immediatamente prima dell'uso.

Soluzione in esame. Alcalinizzare con *sodio carbonato R* una quantità di preparazione, corrispondente a 0,5 mg circa di naloxone cloridrato ed estrarre con 10 ml di *etere etilico R*. Evaporare a secco la fase eterea e riprendere con 2 ml di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *naloxone cloridrato diidrato SCR* in 0,5 ml di *sodio carbonato soluzione R* e diluire a 10 ml con *metanolo R*; filtrare se necessario.

Deporre separatamente sulla lastra 50 µl della soluzione in esame e 10 µl della soluzione di riferimento. Eluire per un percorso di 12 cm usando una miscela di 5 volumi di *metanolo R* e 100 volumi di *butanolo R* saturo di *ammoniaca R*. Seccare la lastra con aria calda e spruzzare con una soluzione (5 g/l), preparata di recente, di *potassio ferricianuro R* in *ferro(-ico) cloruro soluzione R1*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 5,0.

Endotossine batteriche. Non più di 10 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,002 per cento *m/V* di naloxone cloridrato.

Per somministrazione intratecale. Non più di 0,04 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,002 per cento *m/V* di naloxone cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28) usando *papaverina R* come standard interno.

Soluzione dello standard interno. Disciogliere 13,0 mg circa, esattamente pesati, di *papaverina R* in 10,0 ml di *diclorometano R*.

Soluzione in esame. Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 6 mg circa di naloxone cloridrato, aggiungere 2 ml circa di *tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0 R* fino ad avere un pH compreso tra 8,5 e 9,0. Estrarre con cinque porzioni successive da 25 ml ciascuna di *diclorometano R*, evaporare gli estratti riuniti e riprendere il residuo con 5,0 ml della soluzione dello standard interno.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 12,0 mg di *naloxone cloridrato diidrato SCR* in *acqua R* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente. Aggiungere 2 ml circa di *tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0 R* fino ad avere un pH compreso tra 8,5 e 9,0. Estrarre con cinque porzioni successive da 10 ml ciascuna di *diclorometano R*, evaporare gli estratti riuniti e riprendere il residuo con 10,0 ml di soluzione dello standard interno.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di vetro lunga 1,2 m e con diametro interno di 0,3 cm impaccata con *terra d'infusori silanizzata per gas cromatografia R* impregnata con il 3,8 per cento di *polimetilfenilsilossano R*,
- *elio per cromatografia R* come gas di trasporto ad un flusso di 60 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 230 °C, quella della camera d'iniezione a 270 °C e quella del rivelatore a 290 °C.

Iniettare separatamente un idoneo volume di soluzione in esame (circa 1 µl) e lo stesso volume della soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione iniettabile contiene anche 0,4 mg/ml di naloxone cloridrato.

NEOMICINA COLLIRIO SOLUZIONE

Neomicina solfato soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di neomicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di neomicina è una soluzione isotonica sterile avente la seguente composizione:

Neomicina solfato	5 g
Sodio fosfato dibasico dodecaidrato	7 g
Sodio fosfato monobasico diidrato	7 g
Sodio cloruro	4 g
Sodio edetato	0,100 g
Acqua depurata sterile q.b. a	1000 ml

Contiene un idoneo antimicrobico

Attività della neomicina solfato: compresa tra il 90,0 per cento e il 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di neomicina solfato indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando gel di silice *H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 50 mg di neomicina solfato *SCR* in 10 ml di acqua *R*.

Deporre separatamente sulla lastra 4 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una soluzione (38,5 g/l) di ammonio acetato *R* in acqua *R*. Lasciar asciugare la lastra all'aria per 10 min e seccare a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra ancora calda con una soluzione (1 g/l) di ninidrina *R* in butanolo *R* saturo di acqua *R* e scaldare nuovamente a 100-105 °C per 5 min. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta una macchia con valori di R_f , colore ed intensità uguale a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,8 e 7,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 5 mg circa di neomicina solfato, a 50,0 ml con *tampone soluzione a pH 8,0 R*. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *neomicina solfato SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

NEOMICINA PREPARAZIONE OFTALMICA SEMISOLIDA

Neomicina solfato pomata oftalmica

La preparazione oftalmica semisolida di neomicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

La preparazione oftalmica semisolida di neomicina ha la seguente composizione:

Neomicina solfato	5 g
Paraffina liquida	100 g
Vaselina bianca	895 g

Preparazione. Disperdere con tecnica asettica la neomicina solfato, convenientemente micronizzata e sterilizzata, nella paraffina liquida previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h. Aggiungere quindi, sotto agitazione, la vaselina bianca fusa, previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h, mescolando fino a completa solidificazione e omogenizzazione.

Attività della neomicina solfato: compresa tra il 90,0 per cento e il 115,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di neomicina solfato indicata in etichetta.

CARATTERI

Dispersione di consistenza pastosa, filante, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 30 mg di neomicina solfato, aggiungere 20 ml di *etere R*. Agitare ed estrarre con tre porzioni successive da 10 ml ciascuna di *acqua R*. La soluzione ottenuta dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Utilizzare la soluzione preparata come descritto nella reazione di identificazione A.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 10 mg di *neomicina solfato SCR* in 10 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una soluzione (38,5 g/l) di *ammonio acetato R* in *acqua R*, preparata al momento dell'uso. Lasciar asciugare la lastra all'aria per 20 min e seccare a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra ancora calda con una soluzione (1 g/l) di *ninidrina R* in *butanolo R* saturo di *acqua R* e scaldare nuovamente a 100-105 °C per 5 min. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta una macchia simile per posizione, colore e dimensioni a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 10 mg di neomicina, aggiungere 20 ml di *etere R*, agitare ed estrarre la miscela con 10,0 ml di *tampone soluzione a pH 8,0 R*. Filtrare la soluzione acquosa in un pallone tarato da 50 ml e ripetere l'estrazione per altre tre volte. Riunire gli estratti filtrati e diluire a 50,0 ml con *tampone soluzione a pH 8,0 R*. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *neomicina solfato SCR* come sostanza di riferimento.

CONSERVAZIONE

In adeguato contenitore ben chiuso, al riparo dal calore.

NIAOULI ESSENZA GOCCE NASALI

Olio gomenolato

Le gocce nasali di niaouli essenza soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

Le gocce nasali contengono *Niaouli essenza* disciolta in idoneo veicolo oleoso.

Contenuto di 1,8-cineolo (C₁₀H₁₈O): non meno del 50,0 per cento e non più del 60,0 per cento della quantità di niaouli essenza indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido incolore o giallo pallido, di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) è simile per tempo di ritenzione, al picco principale dell'1,8 cineolo nel cromatogramma ottenuto nella soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28), utilizzando *mentolo R* come standard interno.

Soluzione in esame (a). Pesare esattamente una quantità di prodotto corrispondente a 0,100 g di niaouli essenza e 0,050 g di *mentolo R* in un matraccio da 50 ml. Portare a volume con *esano R*.

Soluzione in esame (b). Diluire 1 ml della soluzione in esame (a) a 25 ml con *esano R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 100 mg di *niaouli essenza*, 50 mg di *mentolo R* in 50 ml di *esano R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml della soluzione di riferimento (a) a 25 ml con *esano R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di circa 0,32 mm, impaccata con *poli[metil(95)fenil(5)]silossano R*,
- *idrogeno per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 2 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 2 min, quindi innalzarla, ad una velocità di 25 °C per minuto fino a 250 °C e mantenerla a 250 °C per 3 min. Mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 280 °C. Iniettare 0,5 µl della soluzione di riferimento (b). Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento (a). Registrare i tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se la risoluzione fra il picco del 1,8 cineolo e quello del mentolo è almeno 5. Iniettare circa 0,5 µl della soluzione in esame (b). Individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) usando i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b). Non considerare il picco dovuto al solvente e allo standard interno. Ripetere le iniezioni della soluzione di riferimento (b) e della soluzione in esame (b) fino ad ottenere dei valori riproducibili.

Calcolare il contenuto percentuale di 1,8 cineolo mediante il procedimento dello standard interno.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, al riparo dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso:

- il nome di ogni antimicrobico aggiunto.

Le gocce nasali contengono l'1 o il 2 per cento m/m di niaouli essenza.

NIAOULI ESSENZA E MENTOLO GOCCE NASALI

Rinobalsamiche gocce nasali

Le gocce nasali di niaouli essenza e mentolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

Le gocce nasali contengono *Niaouli essenza* e *Mentolo racemico* disciolto in idoneo veicolo oleoso.

Contenuto di 1,8-cineolo (C₁₀H₁₈O): non meno del 50,0 per cento e non più del 60,0 per cento della quantità di niaouli essenza indicata in etichetta.

Contenuto di mentolo racemico (C₁₀H₂₀O): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido oleoso, incolore o giallo pallido, di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) sono simili per tempi di ritenzione, a quelli dovuti all'1,8 cineolo ed al mentolo nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante gas cromatografia (2.2.28).

Soluzione in esame (a). Pesare esattamente una quantità di preparazione, corrispondente a 120 mg di niaouli essenza ed a 40 mg di mentolo, in un pallone tarato da 50 ml. Portare a volume con *esano R*.

Soluzione in esame (b). Diluire 1 ml della soluzione in esame (a) a 25 ml con *esano R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 120 mg di *niaouli essenza* e 40 mg di *mentolo R* in un pallone tarato da 50 ml con *esano R*. Portare a volume con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml della soluzione di riferimento (a) a 25 ml con *esano R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna capillare di silice fusa lunga 30 m e con diametro interno di circa 0,32 mm, impaccata con *poli[metil(95)fenil(5)]silossano R*,
- *idrogeno per cromatografia R* come gas di trasporto ad una velocità di flusso di 2 ml per minuto,
- un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C per 2 min, quindi innalzarla, ad una velocità di 25 °C per minuto, fino a 250 °C e mantenerla a 250 °C per 3 min. Mantenere la temperatura della camera di iniezione e quella del rivelatore a 280 °C. Iniettare 0,5 µl della soluzione di riferimento (b). Identificare i componenti eluiti seguendo l'ordine indicato nella composizione della soluzione di riferimento (a). Registrare i

Nicotinamide compresse

tempi di ritenzione di queste sostanze. Il saggio è valido solo se la risoluzione fra il picco dell'1,8 cineolo e quello del mentolo è almeno 5.

Iniettare 0,5 µl della soluzione in esame (b). Individuare gli stessi componenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (b) usando i tempi di ritenzione determinati con il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b). Non considerare il picco dovuto al solvente. Ripetere le iniezioni della soluzione di riferimento (b) e della soluzione in esame (b) fino ad ottenere dei valori riproducibili.

Calcolare il contenuto percentuale di 1,8 cineolo e di mentolo considerando i relativi picchi mediante il metodo dello standard esterno (2.2.46).

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce.

Le gocce nasali contengono l'1,5 per cento m/m di niaouli essenza e lo 0,5 per cento m/m di mentolo racemico.

NICOTINAMIDE COMPRESSE

Le compresse di nicotinamide soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di nicotinamide contengono *Nicotinamide* in adeguati eccipienti.

Contenuto di nicotinamide (C₆H₆N₂O): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

A. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 0,05 g di nicotinamide, per alcuni minuti con *acqua esente da anidride carbonica R*, diluire a 50 ml e filtrare. A 2 ml del filtrato aggiungere 2 ml di *cianogeno bromuro soluzione R* e 3 ml di una soluzione (25 ml/l) di *anilina R* in *alcool R* e mescolare: si sviluppa una colorazione gialla.

B. Diluire 5 ml della soluzione 1, ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, a 100,0 ml con *alcool R*. La soluzione esaminata tra 250 nm e 350 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 262 nm e due flessi a 258 nm e 269 nm; il rapporto tra l'assorbanza al massimo di 245 nm e quella al massimo di 262 nm è compreso tra 0,63 e 0,67.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 0,100 g di nicotinamide, in *etanolo R* per 15 min, filtrare, evaporare a secco a b.m. Disciogliere il residuo, quanto più è possibile, in 1 ml di *etanolo R*.

Soluzione di riferimento. Diluire 1:400 la soluzione in esame con *etanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 48 volumi di *cloroformio R*, 45 volumi di *etanolo R* e 10 volumi di *acqua R*. Asciugare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare per 15 min circa una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 50 mg di nicotinamide, con circa 60 ml di *alcool R* e diluire a 100,0 ml (soluzione 1). Mescolare, filtrare e diluire 5,0 ml del filtrato a 100 ml con *alcool R* e misurare l'assorbanza (2.2.25) della risultante soluzione al massimo di assorbimento a 262 nm.

Calcolare il contenuto in C₆H₆N₂O tenendo conto che il valore della assorbanza specifica è 241.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 250 mg di nicotinamide.

NISTATINA COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di nistatina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di nistatina contengono *Nistatina* in adeguati eccipienti.

Attività della nistatina: compresa tra il 90,0 per cento e il 130,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di nistatina indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di compresse polverizzate corrispondente a 300000 U.I. circa di nistatina, aggiungere una miscela formata da 5 ml di *acido acetico glaciale R* e 50 ml di *metanolo R*. Agitare, diluire a 100 ml con *metanolo R* e filtrare. Diluire 1 ml a 100 ml con *metanolo R*. Esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25), la soluzione mostra quattro massimi di assorbimento rispettivamente a 230 nm, a 291 nm, a 305 nm e a 319 nm ed un flesso a 280 nm; il rapporto tra l'assorbanza misurata al massimo di assorbimento a 230 nm e l'assorbanza misurata al flesso a 280 nm è compreso tra 0,83 e 1,25.

SAGGI

Perdita all'essiccamento. (2.2.32). Non superiore al 5,0 per cento (8,0 per cento nel caso di compresse film rivestite), determinata su 1,0 g circa di polvere, ottenuta dalla polverizzazione delle compresse, essiccata per 3 h a 60 °C, ad una pressione non superiore a 0,67 kPa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Pesare e polverizzare finemente non meno di venti compresse. Ad una quantità di polvere esattamente pesata e corrispondente a 200000 U.I. circa di nistatina aggiungere 45 ml di *dimetilformammide R*, agitare e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente e centrifugare. Diluire 5,0 ml del liquido limpido a 100,0 ml con *tam-*

pone fosfato soluzione a pH 6 R. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *nistatina SCR* come riferimento.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500000 U.I. di nistatina.

NISTATINA SCIROPPO

Lo sciroppo di nistatina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di nistatina contiene *Nistatina* in adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Attività della nistatina: compresa tra il 90,0 per cento e il 130,0 per cento dell'attività corrispondente alla quantità di nistatina indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione sciropposa, omogenea dopo agitazione.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di sciroppo corrispondente a 300000 U.I. circa di nistatina aggiungere una miscela formata da 5 ml di *acido acetico glaciale R* e 50 ml di *metanolo R*. Agitare, diluire a 100 ml con *metanolo R* e filtrare. Diluire 1 ml a 100 ml con *metanolo R*. Esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25), la soluzione mostra quattro massimi di assorbimento rispettivamente a 230 nm, a 291 nm, a 305 nm e a 319 nm ed un flesso a 280 nm; il rapporto tra l'assorbanza misurata al massimo di assorbimento a 230 nm e l'assorbanza misurata al flesso a 280 nm è compreso tra 0,83 e 1,25.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione è compreso tra 4,5 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Ad una quantità di sciroppo esattamente misurata e corrispondente a 200000 U.I. circa di nistatina, aggiungere 45 ml di *dimetilformammide R*, agitare e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente e centrifugare. Diluire 5,0 ml del liquido limpido a 100,0 ml con *tam-*

Nitrofurantoina compresse

pone fosfato soluzione a pH 6 R. Effettuare il dosaggio microbiologico degli antibiotici (2.7.2). Usare *nistatina SCR* come riferimento.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene 10000000 U.I. di nistatina per 100 ml di sospensione.

NITROFURAL COMPRESSE VAGINALI

Nitrofurazone compresse vaginali

Le compresse vaginali di nitrofurural soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni vaginali (1164).

DEFINIZIONE

Le compresse di nitrofurural contengono *Nitrofurural* in adeguati eccipienti.

Contenuto di nitrofurural ($C_6H_6N_4O_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse gialle, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 100 mg di nitrofurural, aggiungere 50 ml di *alcohol R*. Agitare ed evaporare a secco il filtrato. Il residuo soddisfa alla seguente reazione di identificazione:

- A. Disciogliere una quantità di polvere, corrispondente a circa 1 mg di nitrofurural, in 1 ml di *dimetilformammide R* e aggiungere 0,1 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica R*. Appare una colorazione rosso-violetta.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Disciogliere una quantità di polvere, corrispon-

dente a circa 100 mg di nitrofurural, in 10 ml di una miscela di volumi uguali di *dimetilformammide R* e *acetone R*.

Soluzione di riferimento. Soluzione (0,1 g/l) di *(5-nitro-2-furil)metilene diacetato R* nella stessa miscela di solventi.

Operare al riparo della luce.

Deporre separatamente su una lastra 10 μ l di ciascuna soluzione. Effettuare la cromatografia, al riparo dalla luce, con una fase mobile formata da una miscela di 95 volumi di *toluene R* e 5 volumi di *diossano R*, per un percorso di 15 cm circa. Asciugare la lastra per 5 min a 105 °C e spruzzare con *fenilidrazina cloridrato R* in *alcohol R*. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame ad eccezione della macchia principale è più intensa delle macchie corrispondenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 50 mg di nitrofurural, aggiungere 20 ml di *dimetilformammide R*, agitare, diluire a 500,0 ml con *acqua R* e filtrare. Diluire 5,0 ml della soluzione con *acqua R* portando al volume di 100,0 ml. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo a 375 nm, impiegando come bianco 0,2 ml di *dimetilformammide R* diluiti a 100 ml con *acqua R*. Calcolare il contenuto di $C_6H_6N_4O_4$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 795.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse vaginali contengono 50 mg di nitrofurural.

NITROFURANTOINA COMPRESSE

Le compresse di nitrofurantoina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di nitrofurantoina contengono *Nitrofurantoina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di nitrofurantoina ($C_8H_6N_4O_5$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse gialle, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a circa 10 mg di nitrofurantoina, aggiungere 10 ml di *dimetilformammide R* e agitare. Ad 1 ml aggiungere 0,1 ml di *potassio idrossido soluzione alcoolica R*: si sviluppa una colorazione bruna.
- B. La soluzione ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 220 nm e 400 nm (2.2.25) mostra due massimi di assorbimento a 266 nm e 367 nm. Il rapporto tra l'assorbanza al massimo a 367 nm e quella al massimo a 266 nm è compreso tra 1,35 e 1,45.

SAGGI

Operare al riparo dalla luce.

Dissoluzione. Effettuare il saggio di dissoluzione delle forme farmaceutiche solide (2.9.3) utilizzando come apparecchio l'agitatore a paletta. Il liquido di dissoluzione è costituito da 900 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 7,2 R*. La velocità di rotazione è regolata a 50 giri al minuto. Dopo 60 min e 120 min rispettivamente prelevare 10 ml di liquido e diluire opportunamente, se necessario, con il liquido di dissoluzione. Dopo eventuale filtrazione misurare l'assorbanza (2.2.25) a 375 nm. Calcolare la quantità di nitrofurantoina disciolta nel liquido di dissoluzione dal valore dell'assorbanza specifica della nitrofurantoina, determinato su una soluzione di *nitrofurantoina SCR* opportunamente diluita con il liquido di dissoluzione. Usare il liquido di dissoluzione come bianco. Non meno del 25 per cento e non meno dell'85 per cento della quantità dichiarata deve sciogliersi rispettivamente entro 60 min e 120 min.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice HF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 100 mg circa di nitrofurantoina, aggiungere 10 ml di una miscela formata da 1 volume di *dimetilformammide R* e 9 volumi di *acetone R*, agitare e filtrare.

Soluzione di riferimento. Diluire 1,0 ml della soluzione in esame a 100,0 ml con *acetone R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 90 volumi di *nitrometano R* e 10 volumi di *metanolo R*. Lasciar seccare la lastra all'aria, riscaldare per 5 min a 100-105 °C ed esaminare alla luce ultravioletta

letta a 254 nm. Spruzzare con *fenilidrazina cloridrato soluzione R*, riscaldare per 10 min a 100-105 °C. Esaminata alla luce ultravioletta e dopo aver spruzzato il reattivo nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Pesare e polverizzare non meno di 20 compresse. Aggiungere ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 50 mg circa di nitrofurantoina, 50 ml di *dimetilformammide R*, agitare e diluire a 1000,0 ml con *acqua R*. Diluire 10,0 ml, eventualmente filtrati, a 100,0 ml con una soluzione (18 g/l) di *sodio acetato R* e (1,4 ml/l) di *acido acetico glaciale R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione a 367 nm circa usando come bianco una soluzione (6 ml/l) di *dimetilformammide R* nella soluzione di sodio acetato ed acido acetico glaciale precedente. Calcolare il contenuto di C₈H₆N₄O₅ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 765.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 50 mg di nitrofurantoina.

NITROFURANTOINA SCIROPPO

Lo sciroppo di nitrofurantoina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di nitrofurantoina contiene *Nitrofurantoina* in adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di nitrofurantoina (C₈H₆N₄O₅): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione sciropposa di colore giallo, omogenea dopo agitazione.

Nitroglicerina compresse sublinguali

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione ottenuta come descritto alla Determinazione quantitativa, esaminata tra 220 nm e 400 nm (2.2.25) mostra due massimi di assorbimento a 266 nm e a 367 nm.
- B. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH dello sciroppo è compreso tra 4,5 e 6,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice HF₂₅₄ R* come sostanza di riferimento.

Operare al riparo dalla luce.

Soluzione in esame. Agitare una quantità di preparazione, corrispondente a 50 mg di nitrofurantoina, con 15 ml di una miscela formata da 1 volume di *dimetilformammide R* e 9 volumi di *acetone R*. Lasciare a riposo, prelevare la fase organica e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 50 mg di *nitrofurantoina SCR* in 10 ml di sciroppo semplice, aggiungere 15 ml di una miscela formata da 1 volume di *dimetilformammide R* e 9 volumi di *acetone R*. Agitare, lasciare quindi a riposo, prelevare la fase organica e filtrare.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml della soluzione di riferimento (a) a 100 ml con una miscela formata da 1 volume di *dimetilformammide R* e 9 volumi di *acetone R*.

Deporre separatamente sulla lastra 50 µl della soluzione in esame e delle soluzioni di riferimento (b). Eluire per un percorso di 15 cm, usando una miscela di 90 volumi di *nitrometano R* e 10 volumi di *metanolo R*. Lasciare asciugare la lastra all'aria, riscaldare per 5 min a 100-105 °C ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Spruzzare con *fenilidrazina cloridrato soluzione R* e riscaldare per 10 min a 100-105 °C. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 50 mg di nitrofurantoina, aggiungere 50 ml di *dimetilformammide R* e agitare a lungo. Portare al volume di 1000,0 ml con una soluzione contenente (18 g/l) di *sodio acetato R* e (1,4 ml/l) di *acido*

acetico glaciale R. Diluire 10,0 ml, eventualmente filtrati, a 100,0 ml con lo stesso solvente e determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione così ottenuta al massimo di assorbimento a 367 nm circa, usando come riferimento una soluzione (5 ml/l) di *dimetilformammide R* nella soluzione di sodio acetato e acido acetico glaciale. Calcolare il contenuto di $C_8H_6N_4O_5$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 765.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

La soluzione orale contiene lo 0,5 per cento m/V di nitrofurantoina.

NITROGLICERINA COMPRESSE SUBLINGUALI

Le compresse sublinguali di nitroglicerina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di nitroglicerina contengono *Nitroglicerina* in adeguati eccipienti.

Si preparano a partire da *nitroglicerina* che è una dispersione all'1 per cento di nitroglicerina su lattosio.

Contenuto di nitroglicerina ($C_3H_5N_3O_9$): non meno dell'85,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità di nitroglicerina indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Operare con la necessaria attenzione.

- A. Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a 3 mg di nitroglicerina, con 5 ml di *etere R* e filtrare. Evaporare a secco l'etere e disciogliere immediatamente il residuo in alcune gocce di *difenilammina soluzione R*; si sviluppa una intensa colorazione blu.

- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando lastre adatte di *gel di silice G R*.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a 0,5 mg di nitroglicerina, con 1 ml di *acetone R* e centrifugare.

Soluzione di riferimento. Estrarre una quantità di *nitroglicerina SCR* corrispondente a 0,5 mg circa di nitroglicerina con 1 ml di *acetone R* e centrifugare.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm circa usando *toluene R* come fase mobile. Asciugare la lastra all'aria, spruzzare con una soluzione (10 g/l) di *difenilammina R* in *metanolo R*. Esporre la lastra per 15 min alla luce ultravioletta a 254 e a 366 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa operando con la necessaria attenzione. Disciogliere in *acqua R* e diluire a 500,0 ml. Filtrare se necessario ed eliminare i primi millilitri del filtrato. A 2 ml del filtrato successivo aggiungere 4 ml di una soluzione (10 g/l) di *stronzio idrossido R* e riscaldare per 15 min a b.m. termostato a 70 °C. Raffreddare in ghiaccio fino a temperatura ambiente, aggiungere, agitando dopo ogni aggiunta, 1 ml di una soluzione (10 g/l) di *procaina cloridrato R*, 1 ml di *acido cloridrico 4 M* e 1 ml di una soluzione (1 g/l) di *naftilendiammina dicloridrato R*. Diluire a 50 ml con *acqua R*, agitare e dopo 60 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 550 nm, utilizzando un bianco ottenuto nell'identico modo ma utilizzando *acqua R* in luogo della soluzione del prodotto in esame. Eseguire contemporaneamente e nelle stesse condizioni, una prova di confronto con *nitroglicerina SCR*. Calcolare il contenuto di $C_3H_5N_3O_9$ tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse operando con la necessaria attenzione. Disciogliere in *acqua R* una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di una compressa, portare a volume di 500,0 ml e filtrare, se necessario, eliminando i primi millilitri del filtrato. A 2 ml del filtrato successivo aggiungere 4 ml di soluzione (10 g/l) di *stronzio idrossido R* e riscaldare per 15 min a b.m. termostato a 70 °C. Raffreddare in ghiaccio fino a temperatura ambiente, aggiungere, agitando dopo ogni aggiunta, 1 ml di una soluzione (10 g/l) di *procaina cloridrato R*, 1 ml di *acido cloridrico 4 M* e 1 ml di una soluzione (1 g/l) di *naftiletildiammina dicloridrato R*.

Diluire a 50 ml con *acqua R*, agitare e dopo 60 min misurare l'assorbanza (2.2.25) a 550 nm, utilizzando un bianco ottenuto nell'identico modo, ma utilizzando *acqua R* in luogo della soluzione del prodotto in esame. Eseguire, contemporaneamente e nelle stesse condizioni, una prova di confronto con *nitroglicerina SCR*. Calcolare il contenuto di $C_3H_5N_3O_9$, tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, preferibilmente di vetro, con tappo a vite rivestito nella parte inferiore con alluminio o stagnola, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 0,5 mg di nitroglicerina.

NORADRENALINA CONCENTRATO PER SOLUZIONE INIETTABILE

Noradrenalina tartrato fiale da diluire

Il concentrato per soluzione iniettabile di noradrenalina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato per soluzione iniettabile di noradrenalina è una soluzione sterile avente, per una fiala, la seguente composizione:

<i>Noradrenalina tartrato acido</i>	2 mg
<i>Sodio cloruro</i>	8 mg
<i>Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a</i>	1 ml

Può contenere un adeguato antiossidante.

Preparazione: disciogliere in *Acqua per preparazione iniettabile* deareata il *Sodio cloruro* e l'eventuale antiossidante, aggiungere quindi la *Noradrenalina tartrato acido*. Portare a volume, filtrare, ripartire in corrente di *azoto R* in fiale da 1 ml e sterilizzare in autoclave.

Contenuto di noradrenalina tartrato acido ($C_{12}H_{17}NO_9 \cdot H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad un volume di preparazione, corrispondente a 4 mg circa di noradrenalina tartrato acido, aggiungere una goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1*. Si forma una colorazione verde intensa che per aggiunta di *sodio bicarbonato soluzione R* vira all'azzurro e quindi al rosso.
- B. Ad un volume di preparazione, corrispondente a 2 mg circa di noradrenalina tartrato acido, aggiungere 10 ml di *tampone fosfato soluzione a pH 3,6 R* e 1 ml di *iodio 0,05 M*. Lasciare a riposo per 5 min. Aggiungere 2 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M*: la soluzione rimane incolore o si colora leggermente in rosso.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 4,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 700 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,2 per cento *m/V* di noradrenalina tartrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire a 250,0 ml un volume di preparazione esattamente misurato e corrispondente a circa 20 mg di noradrenalina tartrato. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 279 nm usando come riferimento *acqua R*. Calcolare il contenuto di $C_{12}H_{17}NO_9 \cdot H_2O$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 80.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce. Se la soluzione è di colore bruno deve essere eliminata.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione da usare per somministrazione endovenosa dopo opportuna diluizione, immediatamente prima dell'uso.

OLIO DI RICINO CAPSULE

Le capsule di olio di ricino soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di olio di ricino contengono *Olio di ricino*.

CARATTERI

Capsule molli, di aspetto uniforme contenenti un liquido limpido, viscoso, quasi incolore o leggermente giallo.

SAGGI

Riunire il contenuto di alcune capsule.

Densità relativa (2.2.5). Da 0,952 a 0,965.

Assorbanza (2.2.25). Aggiungere *alcool R* ad 1 g del prodotto in esame e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. La soluzione presenta un massimo di assorbimento a 269 ± 1 nm. L'assorbanza specifica misurata a questo massimo non è superiore a 1,0.

Indice di acidità (2.5.1). Disciogliere 5,0 g in 25 ml della prescritta miscela di solventi. L'indice di acidità non è superiore a 2,0.

Indice di ossidrilite (2.5.3, *Metodo A*). Non meno di 150.

Indice di iodio (2.5.4). Da 82 a 90.

Indice di perossidi (2.5.5). Non superiore a 5,0.

Indice di saponificazione (2.5.6). Da 176 a 187, determinato su 2,0 g.

Sostanze insaponificabili (2.5.7). Non più dello 0,8 per cento *m/m*, determinate su 5,0 g.

Sostanze grasse estranee.

(a) Aggiungere 8 ml di *alcool R* a 2 ml. La soluzione è limpida (2.2.1).

(b) Agitare 10,0 ml con 20,0 ml di *etere di petrolio R*. Lasciar separare. Lo strato inferiore ha un volume non inferiore a 16,0 ml.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le capsule contengono 1 g di olio di ricino.

OMATROPINA COLLIRIO SOLUZIONE

Il collirio soluzione di omatropina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di omatropina è una soluzione sterile e isotonica di *Omatropina bromidrato* in *Acqua depurata* sterile.

Contenuto di omatropina bromidrato ($C_{16}H_{22}BrNO_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando lastre di *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 200 mg di omatropina bromidrato SCR in 10 ml di acqua R.

Deporre separatamente 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando come fase mobile una miscela di 10 volumi di *dietilammina R*, 40 volumi di *acetone R* e 50 volumi di *cloroformio R*. Seccare la lastra a 105 °C per 20 min e spruzzare con *potassio iodobismutato soluzione R*. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

B. Portare a secco a b.m. 1 ml circa di preparazione in esame. Aggiungere 5 gocce di *acido nitrico fumante R* ed evaporare di nuovo a secco a b.m. Riprendere il residuo con 2 ml di *acetone R* ed aggiungere 4 gocce di *potassio idrossido soluzione metanolica R*. Non si sviluppa una colorazione violetta (differenza con l'atropina).

C. Dà la reazione caratteristica (a) dei bromuri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 6,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre in imbuto separatore un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a 100 mg circa di omatropina bromidrato, alcalinizzare fino a pH 10-10,5 con *sodio idrossido 0,1 M*. Estrarre la soluzione con sei porzioni da 10 ml ciascuna di *cloroformio R*. Riunire gli estratti e diluire a 100,0 ml con *cloroformio R*. Titolare 50,0 ml di questa soluzione con una soluzione di *acido toluensolfonico 0,005 M*, utilizzando come indicatore *giallo metile soluzione R*.

1 ml di *acido toluensolfonico 0,005 M* equivale a 1,781 mg di $C_{16}H_{22}BrNO_3$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Il collirio contiene il 2 per cento m/V di omatropina bromidrato.

PAPAVERINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Papaverina cloridrato fiale

La preparazione iniettabile di papaverina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di papaverina è una soluzione sterile e apirogena di *Papaverina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione può contenere sodio edetato soluzione (0,05 g/l).

Contenuto di papaverina cloridrato ($C_{20}H_{22}ClNO_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 200 mg circa di papaverina cloridrato, aggiungere *ammoniaca R* goccia a goccia e lasciare a riposo. Il precipitato, lavato e seccato, fonde (2.2.14) tra 146 °C e 149 °C.

B. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 15 mg circa di papaverina cloridrato, aggiungere 3 gocce di *acido cloridrico diluito R* e 5 gocce di *potassio ferricianuro soluzione R*: si forma un precipitato giallo limone.

C. Evaporare a secco in corrente d'aria una quantità di preparazione corrispondente a 15 mg circa di papaverina cloridrato. Al residuo aggiungere 1 ml di *acido solforico R* contenente una goccia di *formaldeide soluzione acquosa R*: si sviluppa una colorazione lievemente gialla che diventa gradualmente rosa intenso e poi porpora.

D. Dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

Paracetamolo sciroppo

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 4,5.

Endotossine batteriche. Non più di 35,1 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione all'1,5 per cento *m/V* di papaverina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Evaporare a secco a b.m. una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 300 mg circa di papaverina cloridrato. Disciogliere il residuo in 30 ml di *acido acetico anidro R* e aggiungere 3 ml di *mercurio(-ico) acetato soluzione R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M* utilizzando come indicatore 0,05 ml di *cristal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 37,59 mg di $C_{20}H_{22}ClNO_4$.

Se alla soluzione è stato aggiunto sodio edetato, prima della determinazione quantitativa effettuare un procedimento di estrazione con *cloroformio R* dopo aver alcalinizzato la soluzione.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione contiene 30 mg di papaverina cloridrato in 2 ml di soluzione o 50 mg in 3 ml.

PARACETAMOLO COMPRESSE

Le compresse di paracetamolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di paracetamolo contengono *Paracetamolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di

paracetamolo, con 20 ml di *acetone R*, filtrare ed evaporare a secco il filtrato. Il residuo, dopo essiccamento a 105 °C, soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Punto di fusione (2.2.14): da 168 °C a 172 °C.
- Disciogliere 50 mg circa di residuo in *metanolo R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. A 1,0 ml della soluzione aggiungere 0,5 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e diluire a 100 ml con *metanolo R*. Tenere la soluzione al riparo dalla luce e misurare immediatamente l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 249 nm. L'assorbanza specifica al massimo è compresa tra 860 e 980.
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spettro ottenuto con *paracetamolo SCR*. Esaminare le sostanze come dispersione in pasticche.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 150 mg di paracetamolo, aggiungere 50 ml di *sodio idrossido 0,1 M*, diluire con 100 ml di *acqua R*, agitare per 15 min e portare al volume di 200 ml con *acqua R*. Mescolare, filtrare e diluire 10 ml del filtrato a 100 ml con *acqua R*. Aggiungere, a 10 ml della soluzione, 10 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e diluire a 100 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 257 nm circa. Calcolare il contenuto di $C_8H_9NO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 715.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di paracetamolo.

PARACETAMOLO SCIROPPPO

Paracetamolo elisir

Lo sciroppo di paracetamolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di paracetamolo contiene il 2,5 per cento *m/V* di *Paracetamolo* in adeguato veicolo sciropposo.

Preparazione: preparare le soluzioni A (*Paracetamolo* 25 g, *Etanolo 96 per cento* 70 g, *Glicole propilenico* 150 g) e B (*Sorbitolo* 73,5 g, *Saccarosio* 465 g, *Sodio citrato* 1,5 g, *Acido citrico anidro* 0,8 g, *Acqua depurata* q.b.). Aggiungere la soluzione B alla soluzione A, portare al volume di 1000 ml con *Acqua depurata*, mescolare e filtrare.

Contenuto di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 250 mg di *paracetamolo SCR* in 10 ml di *alcool al 50 per cento V/VR*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm usando una miscela di 65 volumi di *cloroformio R*, 10 volumi di *toluene R* e 25 volumi di *acetone R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e osservare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

4-amminofenolo. Agitare 20 ml della preparazione in esame con 20 ml di una miscela di volumi uguali di *metanolo R* e *acqua R*. Preparare contemporaneamente una soluzione di riferimento contenente 0,50 g di *paracetamolo esente da 4-amminofenolo R* e 0,5 ml di una soluzione (0,05 g/l) di *4-amminofenolo R* in 40 ml di una miscela di volumi uguali di *metanolo R* e *acqua R*. Alle due soluzioni aggiungere 0,2 ml di una soluzione, preparata di recente, contenente 10 g/l di *sodio nitroprussiato R* e 10 g/l di *sodio carbonato anidro R*, mescolare e lasciare a riposo per 30 min. Un'eventuale colorazione blu nella soluzione in esame non è più intensa di quella della soluzione di riferimento (50 ppm).

pH (2.2.3). Il pH della preparazione è compreso tra 4,5 e 5,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità della preparazione in esame, esattamente pesata e corrispondente a 125 mg circa di paracetamolo, a 200 ml con *acqua R*. Diluire 1 ml di questa soluzione a 100 ml con *acqua R*. Determinare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo a 244 nm circa, utilizzando *acqua R* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_8H_9NO_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 690 circa. Determinare la densità relativa dello sciroppo e calcolare il contenuto percentuale di paracetamolo.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

PARACETAMOLO SUPPOSTE

Le supposte di paracetamolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145).

DEFINIZIONE

Le supposte di paracetamolo contengono *Paracetamolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Supposte omogenee, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Pesare non meno di 20 supposte, determinarne il peso medio e suddividerle finemente. Ad una quantità di prodotto, corrispondente a 100 mg di paracetamolo, aggiungere 30 ml di una miscela di 1 volume di *diclorometano R* e 1 volume di *acetone R*, agitare fino a dissoluzione completa, diluire a 100,0 ml

Paraffina liquida emulsione

con *metanolo R* e filtrare. Prelevare 2,0 ml di questa soluzione e diluire a 25 ml con *metanolo R*, filtrare se necessario.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 100 mg di *paracetamolo SCR* in 50 ml di una miscela formata da 1 volume di *diclorometano R* e 1 volume di *acetone R* e diluire a 100,0 ml con *metanolo R*. Prelevare 2,0 ml di questa soluzione e diluire a 25 ml con *metanolo R*.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,30 m e con diametro interno di 3,9 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto, una miscela di 60 volumi di *metanolo R1* e 40 volumi di una soluzione allo 0,1 per cento *m/V* di *potassio fosfato monobasico R* (aggiustata a pH 3,5 con *acido fosforico R*),
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare, per 6 volte, 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. La determinazione quantitativa è valida solo se la deviazione standard relativa delle aree ottenute per il paracetamolo è al massimo l'1,5 per cento e se la risoluzione fra il picco del paracetamolo e gli eventuali picchi dovuti agli eccipienti è almeno 2,0; se necessario aggiustare le concentrazioni dei componenti della fase mobile in modo da ottenere la risoluzione richiesta. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. Iniettare 20 µl della soluzione in esame e registrare il cromatogramma nelle stesse condizioni. Calcolare il contenuto di $C_8H_9NO_2$ dalle aree dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e con la soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le supposte contengono 400 mg di paracetamolo.

PARAFFINA LIQUIDA EMULSIONE

Olio di vaselina (emulsione)

L'emulsione di paraffina liquida soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

L'emulsione di olio di vaselina contiene *Paraffina liquida* dispersa in un adeguato veicolo emulsificante edulcorato.

L'emulsione può contenere un idoneo conservante ed edulcoranti.

Contenuto di paraffina liquida: non meno del 95 e non più del 105 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Emulsione bianca che, dopo agitazione, deve essere omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Su un'aliquota della paraffina liquida ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, effettuare i seguenti saggi:

- A. Per forte riscaldamento, brucia con fiamma luminosa e deposita carbone.
- B. 0,5 g, mescolati con una quantità uguale di zolfo e riscaldati in tubo da saggio, svolgono idrogeno solforato; la miscela diventa nera per separazione di carbone.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Agitare bene il flacone in modo da ottenere un'emulsione omogenea e pesare esattamente circa 50 g di emulsione in un becher. Trasferire quantitativamente in un imbuto separatore da 250 ml con l'ausilio di 20 ml di una soluzione satura di *sodio cloruro R* e con 40 ml circa di *etere etilico R*. Estrarre per 3 volte con *etere etilico R* e riunire gli estratti eteri in un altro imbuto separatore. Lavare gli estratti eteri con 2 porzioni successive, ciascuna da 30 ml, della soluzione satura di *sodio cloruro R*. Trasferire in un pallone (precedentemente pesato) da 250 ml e lavare l'imbuto con 20 ml di *etere R*. Portare a secco gli estratti su evaporatore rotante fino a peso costante e pesare il pallone. Calcolare il contenuto percentuale di paraffina liquida mediante la seguente espressione:

$$\frac{(m_1 - m_2)}{p} \times 100$$

m_1 = peso del pallone alla fine dell'analisi in grammi,

m_2 = peso del pallone vuoto in grammi,

p = massa della sostanza in esame in grammi.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica, se del caso:

- il nome di ogni conservante aggiunto.

L'emulsione contiene il 40 per cento m/m di paraffina liquida.

PENTAMIDINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Pentamidina diisetionato polvere sterile
per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di pentamidina diisetionato soddisfa ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di Pentamidina diisetionato è una soluzione sterile di *Pentamidina diisetionato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso sciogliendo la polvere sterile di pentamidina diisetionato nel prescritto volume di solvente.

Pentamidina per preparazioni iniettabili

La pentamidina diisetionato per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La pentamidina diisetionato per preparazioni iniettabili è costituita da *Pentamidina diisetionato* polvere sterile.

Contenuto di pentamidina diisetionato ($C_{23}H_{36}N_4O_{10}S_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto con lo spet-

tro ottenuto con *pentamidina diisetionato SCR*. Esaminare la sostanza come dispersione in pastiche di *potassio bromuro R*.

- B. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 20,0 mg di pentamidina diisetionato in *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml della soluzione a 100,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*. L'assorbanza specifica (2.2.25) della soluzione, al massimo di assorbimento a 262 nm, è circa 475.
- C. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 25,0 mg circa di pentamidina diisetionato in 50 ml di *acqua*. A 10 ml della soluzione aggiungere 1 ml di una soluzione (1 g/l) di *glicosale sodico bisolfito R* e 1 ml di una soluzione preparata sciogliendo 4 g di *acido borico R* in 27 ml di *sodio idrossido 0,1 N* e diluendo a 100 ml con *acqua R*. Si scalda a b. m. per 10 minuti: si sviluppa una colorazione rosso-scura.

SAGGI

pH (2.2.23). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 0,5 g di pentamidina diisetionato in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 6,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 0,100 g circa di pentamidina diisetionato con la fase mobile e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Diluire 2,0 ml della soluzione in esame a 100,0 ml con la fase mobile. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 10,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere in una beuta una quantità di polvere equivalente a 100 mg circa di pentamidina diisetionato in 40 ml di *acqua R*. Portare il pH a 10,5 con *sodio idrossido R* e bollire a ricadere per 20 min. Raffreddare la soluzione e diluire a 50,0 ml con *acqua R*. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 50,0 ml con la fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (5 μ m),
- come fase mobile ad un flusso di 1 ml per minuto una miscela costituita da 65 volumi di *metanolo R*

Petidina preparazione iniettabile

- e 35 volumi di una soluzione (30 g/l) di *ammonio acetato R* precedentemente portata a pH 7,5 con *trietilammina R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 265 nm,
- volume di iniezione: 10 µl,
- durata della corsa cromatografia: 3,5 volte il tempo di ritenzione della pentamidina,
- *idoneità del sistema*: soluzione di riferimento (b); il cromatogramma ottenuto mostra 2 picchi principali,
- *risoluzione*: minimo 2 tra i due picchi principali.

Limiti:

- *ogni singola impurezza*: non superiore all'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,2 per cento),
- *somma delle impurezze*: non superiore al doppio dell'area del picco principale ottenuto con la soluzione di riferimento (a) (0,4 per cento),
- *limite di esclusione*: 0,1 volte l'area del picco principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione (a) (0,02 per cento).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non più del 4,0 per cento, determinata su 1,000 g per essiccamento in un forno a 100-105 °C.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 2,05 U.I. di endotossine per milligrammo di pentamidina o 1,17 U.I. di endotossine per milligrammo di pentamidina diisetionato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Disciogliere una quantità di polvere, prelevata dai contenuti riuniti dei flaconcini, equivalente a 0,250 g di pentamidina diisetionato in 50 ml di *dimetilformamide R*. Aggiungere 0,25 ml di *blu di timolo soluzione R*. Titolare con *tetrabuttilammonio idrossido 0,1 M R* sotto flusso di *azoto R* fino a viraggio dell'indicatore al colore blu.

Effettuare una titolazione in bianco.

1 ml di *tetrabuttilammonio idrossido 0,1 M R* equivale a 29,63 mg di $C_{23}H_{36}N_4O_{10}S_2$.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di pentamidina diisetionato espresso in termini di pentamidina,
- la soluzione ricostituita va iniettata immediatamente; l'eventuale soluzione residua non può essere utilizzata.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere pentamidina diisetionato polvere sterile corrispondente a 200 mg di pentamidina; le fiale di solvente possono contenere 4 ml o i volumi previsti di Acqua per preparazioni iniettabili.

PETIDINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Petidina cloridrato fiale

La preparazione iniettabile di petidina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di petidina è una soluzione sterile e apirogena di *Petidina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di petidina cloridrato ($C_{15}H_{22}ClNO_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg circa di petidina cloridrato, aggiungere 0,1 ml di *formaldeide soluzione R* e 2 ml di *acido solforico R*: si forma una colorazione rosso arancio.
- Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 100 mg circa di petidina cloridrato, aggiungere 15 ml di *acido picrico soluzione R*: si forma un precipitato cristallino giallo, che, lavato con *acqua R* ed essiccato in stufa a 105 °C, fonde (2.2.14) a 190 °C circa.
- Dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 6,0.

Endotossine batteriche. Non più di 117,5 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 5 per cento *m/V* di petidina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Evaporare a secco a b.m. una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 250 mg circa di petidina cloridrato. Disciogliere il residuo, previamente essiccato, in *mercurio(-ico) acetato soluzione R*. Titolare con *acido perclorico 0,1 M* utilizzando come indicatore *crystal violetto soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 28,38 mg di $C_{15}H_{22}ClNO_2$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la soluzione non deve essere usata se non è incolore.

La soluzione contiene il 5 per cento m/V di petidina cloridrato.

PILOCARPINA COLLIRIO SOLUZIONE

Pilocarpina cloridrato soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di pilocarpina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di pilocarpina è una soluzione isotonica, sterile di *Pilocarpina cloridrato* in *Acqua depurata*.

Contenuto di pilocarpina cloridrato ($C_{11}H_{17}ClN_2O_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 115,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire a 100 ml con *acqua R* una quantità di preparazione corrispondente a 20 mg circa di pilocarpina cloridrato.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg di *pilocarpina SCR* in 100 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm circa con una miscela, preparata al momento dell'uso, di 100 volumi di *metanolo R* e 1,5 volumi di *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria per 20 min e poi seccare a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra con *iodoplatinico reattivo R* e seccare a 100-105 °C per 5 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,5 e 4,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre in un imbuto separatore una quantità di preparazione corrispondente a 40 mg circa di pilocarpina cloridrato e diluire a circa 15 ml con *acqua R*. Estrarre la soluzione con 2 porzioni successive, da 10 ml ciascuna, di *etere R*. Filtrare la fase acquosa in un pallone tarato da 100 ml e lavare la fase eterica ed il filtro con 5 ml di *acqua R*. Riunire il filtrato al lavaggio e portare a volume con *acqua R*. In un pallone tarato da 25 ml introdurre 10,0 ml della soluzione ottenuta. In un altro pallone tarato da 25 ml introdurre 10,0 ml di una soluzione di riferimento costituita da una soluzione (0,4 g/l) di *pilocarpina cloridrato R*. Aggiungere ad ogni pallone 2 ml di *idrossilammia cloridrato 1 M* e 2 ml di una soluzione di *sodio idrossido 3,5 M*. Lasciare a riposo per 10 min, aggiungere 2 ml di *acido cloridrico 3,5 M* e 2 ml di una soluzione di *ferro(-ico) cloruro 0,3 M* in *acido cloridrico 0,1 M*; portare a volume con *acqua R* e lasciare a riposo per 10 min. Determinare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni a 500 nm, utilizzando come bianco una soluzione costituita da 10 ml di *acqua R* trattata e diluita come il campione. Calcolare il contenuto di $C_{11}H_{17}ClN_2O_2$ tenendo conto delle assorbanze determinate e delle diluizioni effettuate.

Pino composto soluzione per suffumigi

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce, o in confezione idonea per la somministrazione in dose unica.

Il collirio contiene l'1 per cento m/V, il 2 per cento m/V o il 4 per cento m/V di pilocarpina cloridrato.

PILOCARPINA PREPARAZIONE OFTALMICA SEMISOLIDA

Pilocarpina cloridrato pomata oftalmica

La preparazione oftalmica semisolida di pilocarpina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

La preparazione oftalmica semisolida di pilocarpina è una dispersione sterile di *Pilocarpina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di pilocarpina cloridrato ($C_{11}H_{17}ClN_2O_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Preparazione di consistenza pastosa, filante, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 20 mg circa di pilocarpina cloridrato, aggiungere 20 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con 100 ml di *acqua R* suddivisi in porzioni. La soluzione acquosa soddisfa alle reazioni di identificazione seguenti:

- Dà la reazione caratteristica (a) dei cloruri (2.3.1).
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La soluzione ottenuta come descritto precedentemente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg di *pilocarpina cloridrato SCR* in 100 ml di *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm circa con una miscela, preparata al momento dell'uso, di 100 volumi di *metanolo R* e 1,5 volumi di *ammoniaca R*. Asciugare la lastra all'aria per 20 min e poi seccare a 100-105 °C per 1 h. Spruzzare la lastra con *iodoplatinico reattivo R* e seccare a 100-105 °C per 5 min. La macchia princi-

pale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 40 mg circa di pilocarpina cloridrato, aggiungere 150 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con più porzioni di *acqua R*. Riunire gli estratti acquosi in un pallone tarato da 100 ml e diluire a volume con *acqua R*. Introdurre 10 ml di questa soluzione in un pallone tarato da 25 ml e aggiungere, nell'ordine, 2 ml di *idrossilammia cloridrato 1 M* e 2 ml di *sodio idrossido 3,5 M*. Dopo 10 min, aggiungere 2 ml di *acido cloridrico 3,5 M* e 2 ml di *ferro(-ico) cloruro 0,3 M* in *acido cloridrico 0,1 M*. Lasciare a riposo per 10 min e diluire a 25 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 500 nm utilizzando come bianco *acqua R* alla quale sono stati aggiunti i reattivi. Preparare una soluzione di riferimento con *pilocarpina cloridrato SCR*. Calcolare il contenuto di $C_{11}H_{17}ClN_2O_2$ per confronto tra le assorbanze della soluzione del prodotto in esame e della soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In contenitori idonei ben chiusi, al riparo dalla luce, o in confezione idonea per la somministrazione in dose unica.

La preparazione oftalmica contiene l'1,0 per cento m/V, il 2,0 per cento m/V o il 4,0 per cento m/V di pilocarpina cloridrato.

PINO COMPOSTO SOLUZIONE PER SUFFUMIGI

La soluzione per suffumigi di pino composto soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni per inalazione (0671).

DEFINIZIONE

La soluzione per suffumigi di pino composto ha la seguente composizione:

<i>Pino silvestre essenza</i>	45 g
<i>Eucalipto essenza</i>	45 g
<i>Menta essenza</i>	10 g

CARATTERI

Liquido limpido, incolore o leggermente giallo, di odore aromatico caratteristico.

CONSERVAZIONE

In recipiente di vetro scuro, ben chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTA

L'etichetta indica inoltre:

- usare lontano da fiamma.

PIPERAZINA CAPSULE

Le capsule di piperazina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di piperazina contengono *Piperazina adipato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di piperazina adipato ($C_{10}H_{20}N_2O_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere bianca.

IDENTIFICAZIONE

Mescolare il contenuto di alcune capsule e agitare con 20 ml di *acqua R* una quantità di polvere corrispondente a 1 g circa di piperazina adipato e filtrare.

- A 10 ml del filtrato aggiungere 5 ml di *acido cloridrico R* ed estrarre con 3 porzioni successive, da 10 ml ciascuna, di *etere R*. Conservare lo strato acquoso per la reazione di identificazione B. Evaporare a secco gli estratti eteri riuniti; il residuo, lavato con pochi ml di *acqua R* ed essiccato in stufa a 105 °C, fonde (2.2.14) a 152 °C circa.
- B. Scaldare, per allontanare l'etere, lo strato acquoso proveniente dalla reazione di identificazione A e portare ad ebollizione. Raffreddare a temperatura ambiente, aggiungere 5 ml di *sodio nitrito soluzione R* e raffreddare in ghiaccio per 15 min, sfregando le pareti interne del contenitore con una

bacchetta di vetro. Il precipitato ottenuto, lavato con 10 ml circa di *acqua R* ghiacciata ed essiccato a 105 °C, fonde (2.2.14) a 159 °C circa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare il contenuto di 20 capsule. Agitare per almeno 15 min con 20 ml di *acqua R* una quantità di polvere esattamente pesata corrispondente a 200 mg circa di piperazina adipato. Filtrare e lavare 2 volte il residuo con 10 ml di *acqua R*, riunendo i lavaggi al filtrato. Aggiungere alla soluzione 5 ml di *acido solforico diluito R* e 100 ml di *acido picrico soluzione R1*. Scaldare a b.m. per 15 min e lasciare a riposo per 1 h. Filtrare su filtro di vetro a setto poroso. Lavare il residuo con porzioni successive da 10 ml ciascuna di una miscela costituita da volumi eguali di soluzione satura di *acido picrico R* e di *acqua R*, fino a scomparsa dei solfati nel liquido di lavaggio. Lavare poi il residuo con 5 porzioni successive, da 10 ml ciascuna, di *alcol R*, seccare a 105 °C fino a massa costante.

1,0 g del residuo equivale a 0,4268 g di $C_{10}H_{20}N_2O_4$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi.

Le capsule contengono 300 mg di piperazina adipato.

PIRIMETAMINA COMPRESSE

Le compresse di pirimetamina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di pirimetamina contengono *Pirimetamina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di pirimetamina ($C_{12}H_{13}ClN_4$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Ad una quantità di polvere, corrispondente a 50 mg di pirimetamina, aggiungere 10 ml di *acido*

Potassio acetato concentrato sterile

solforico diluito R, agitare e filtrare. Al filtrato aggiungere 0,2 ml di *potassio iodomercurato soluzione R*; si forma un precipitato bianco cremoso.

- B. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a 50 mg di pirimetamina, con 2 porzioni ciascuna da 10 ml di *cloroformio R* e filtrare. Evaporare a secco gli estratti riuniti; il residuo fonde (2.2.14) da 239 °C a 243 °C.
- C. Disciogliere a caldo in *etanolo R* il residuo ottenuto nella reazione di identificazione B e diluire poi con *acido cloridrico 0,1 M* fino ad ottenere una concentrazione di circa 15 µg/ml. La soluzione, esaminata tra 250 nm e 300 nm (2.2.25), mostra un massimo di assorbimento a 272 nm e un minimo di assorbimento a 261 nm.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare a lungo una quantità di polvere, corrispondente a 100 mg di pirimetamina, con circa 40 ml di una miscela di 1 volume di *metanolo R* e 9 volumi di *cloroformio R* e diluire a 50 ml. Agitare ancora e filtrare.

Soluzione di riferimento. Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 10 cm usando una miscela di 76 volumi di *toluene R*, 12 volumi di *acido acetico glaciale R*, 8 volumi di *propanolo R* e 4 volumi di *cloroformio R*. Asciugare la lastra all'aria ed esaminare a luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse, determinare il peso medio e polverizzarle finemente. In un pallone tarato da 50 ml, aggiungere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di 1 compressa, con 40 ml di *acido cloridrico 0,1 M* caldo e portare a volume. Filtrare e diluire 2,0 ml del filtrato a 50,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare l'assorbimento (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 272 nm circa, utilizzando *acido cloridri-*

co 0,1 M come bianco. Calcolare il contenuto di C₁₂H₁₃ClN₄ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 312.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 25 mg di pirimetamina.

POTASSIO ACETATO CONCENTRATO STERILE

Il concentrato sterile di potassio acetato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di potassio acetato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 29,4 per cento *m/V* di *Potassio acetato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di potassio acetato (CH₃COOK): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,10 e 7,70.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 105 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Potassio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Acetato. Ad un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di acetato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

POTASSIO CLORURO CONCENTRATO STERILE

Il concentrato sterile di potassio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di potassio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 14,9 per cento *m/V* di *Potassio cloruro in Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di potassio cloruro (KCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 6,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 70 U.I./ml per la soluzione al 14,9 per cento *m/V*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Potassio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire un volume di soluzione equivalente a 0,15 g circa di potassio cloruro con 20 ml di *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 7,46 mg di KCl.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

Il concentrato sterile contiene anche il 22,4 per cento m/V di potassio cloruro.

POTASSIO CLORURO SOLUZIONE ORALE

La soluzione orale di potassio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

La soluzione orale di potassio cloruro contiene *Potassio cloruro in Acqua depurata*.

Può contenere aromatizzanti e coloranti autorizzati.

Contenuto di potassio cloruro (KCl): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida.

Potassio fosfato concentrato sterile

IDENTIFICAZIONE

Evaporare a secco 5 ml della soluzione in esame e calcinare il residuo. Raffreddare, disciogliere il residuo in 1 ml di *acqua R* e filtrare.

- Il filtrato dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).
- Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (2.2.22., *Metodo II*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire un volume di soluzione equivalente a 0,10 g circa di potassio cloruro con 20 ml di *acqua R*. Aggiungere 2 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

La soluzione contiene il 10 per cento m/V di potassio cloruro.

POTASSIO FOSFATO CONCENTRATO STERILE

Potassio fosfato soluzione da diluire

Il concentrato sterile di potassio fosfato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di potassio fosfato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 3 per cento m/V di *Potassio fosfato monobasico* e il 15,5 per cento m/V di *Potassio fosfato dibasico* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di potassio fosfato monobasico (KH_2PO_4): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di potassio fosfato dibasico (K_2HPO_4): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei fosfati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire la soluzione in esame 1 a 50 con *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione ottenuta è compreso tra 7,00 e 7,80.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 70 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Potassio fosfato monobasico. Trasferire un volume della soluzione in esame, accuratamente misurato ed equivalente a circa 300 mg di potassio fosfato monobasico, in un recipiente da 100 ml e diluire a 50 ml con *acqua R*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20) con *sodio idrossido 0,1 M* fino al punto di flesso a pH 9,1 circa.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 13,61 mg di KH_2PO_4 .

Potassio fosfato dibasico fosfato. Trasferire un volume della soluzione in esame, accuratamente misurato ed equivalente a circa 300 mg di potassio fosfato dibasico, in un recipiente da 100 ml e diluire a 50 ml con *acqua R*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20) con *acido cloridrico 0,1 M* fino al punto di flesso a pH 4,2 circa.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 17,42 mg di K_2HPO_4 .

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

POTASSIO FOSFATO MONOBASICO COMPRESSE

Le compresse di potassio fosfato monobasico soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse (0478)*.

DEFINIZIONE

Le compresse di potassio fosfato monobasico contengono *Potassio fosfato monobasico* in adeguati eccipienti.

Contenuto di potassio fosfato monobasico (KH_2PO_4): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. La polvere dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).
- B. La polvere dà le reazioni caratteristiche dei fosfati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Trasferire in un pallone tarato da 100 ml, una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 165 mg di potassio fosfato monobasico, aggiungere 70 ml di *acqua R*, agitare per 15 min, portare a volume con lo stesso solvente e filtrare. Diluire 5,0 ml del filtrato a 50,0 ml con *acqua R*. A 2,0 ml di questa soluzione, aggiungere, nell'ordine, 1,0 ml di una soluzione (50 g/l) di *ammonio molibdato R* in *acido solforico 2,5 M*, 1,0 ml di una soluzione acquosa (5 g/l) di *idrochinone R*, 1,0 ml di una soluzione acquosa (200 g/l) di *sodio solfito R*, preparata di recente e diluire a 25,0 ml con *acqua R*. Dopo 30 min misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 820 nm circa. Usare come bianco una soluzione contenente 2,0 ml di *acqua R* al posto della soluzione del prodotto in esame. Eseguire contemporaneamente e nelle stesse condizioni, una prova di confronto con *potassio fosfato monobasico R*. Calcolare il contenuto di KH_2PO_4 tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di potassio fosfato monobasico.

POTASSIO IODATO COMPRESSE

Le compresse di potassio iodato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse (0478)*.

DEFINIZIONE

Le compresse di potassio iodato contengono 170 mg di *Potassio iodato* in *Cellulosa microcristallina* (180 mg).

Contenuto di potassio iodato (KIO_3): non meno del 97,0 per cento e non più del 102,0 per cento della quantità indicata.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare con 20 ml di *acqua R* una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di potassio iodato, e filtrare. Il filtrato soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- A. Ad alcuni millilitri di filtrato aggiungere *argento nitrato soluzione RI*: si forma un precipitato bianco caseoso, difficilmente solubile in *acido nitrico diluito R* e facilmente solubile in *ammoniaca R*.
- B. Ad alcuni millilitro di filtrato aggiungere *bario cloruro soluzione RI*: si forma un precipitato bianco.
- C. Acidificare il filtrato con *acido cloridrico R*. Far cadere una goccia della soluzione acidificata su *amido iodata cartina R* nello stesso punto sul quale precedentemente è stata posta una goccia di *potassio tiocianato soluzione R*: si sviluppa una colorazione blu.
- D. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare per 10 min una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di 10 compresse, con 100 ml di *acqua R* e quindi diluire a 250 ml con *acqua R*. Agitare e filtrare. A 20 ml del fil-

Potassio ioduro gocce

trato aggiungere 3 gocce di *potassio ioduro R*, 100 ml di *acqua R*, 10 ml di *acido cloridrico R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, in presenza di *amido soluzione R*.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 3,567 mg di KIO_3 .

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

POTASSIO IODURO COMPRESSE

Le compresse di potassio ioduro soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di potassio ioduro contengono *Potassio ioduro* in adeguati eccipienti.

Contenuto di potassio ioduro (KI): non meno del 92,5 per cento e non più del 107,5 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare con 10 ml di *acqua R* una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di potassio ioduro, e filtrare.

- Il filtrato dà le reazioni caratteristiche degli ioduri (2.3.1).
- Il filtrato dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di 10 compresse, con 100 ml di *acqua R* per 20 min e diluire a 250,0 ml con *acqua R*. Agitare e filtrare, scartando i primi 20 ml del filtrato. A 50,0 ml del filtrato aggiungere 40 ml di *acqua R*, 25 ml di *alcool R*, 1 ml di *acido nitrico 1 M* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione utilizzando elettrodi argento-calomelano. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni effettuare una prova in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 16,60 mg di KI.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 65 mg o 130 mg di potassio ioduro.

POTASSIO IODURO GOCCE

Le gocce di potassio ioduro soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale(0672).

DEFINIZIONE

Le gocce di potassio ioduro contengono *Potassio ioduro* in *Acqua depurata*.

Contenuto di potassio ioduro (KI): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà le reazioni caratteristiche degli ioduri (2.3.1)
- La soluzione dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 8,5 e 9,5.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire, mescolando, 5 ml circa di soluzione, esattamente misurati, a 100 ml con *acqua R*. A 10 ml aggiungere 40 ml di *acqua R*, 25 ml di *alcool R*, 1 ml di *acido nitrico 1 M* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione utilizzando elettrodi appropriati. Contemporaneamente e nelle stesse condizioni effettuare una prova in bianco.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 16,60 mg di KI.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, al riparo dalla luce.

Le gocce contengono il 50 per cento m/V di potassio ioduro.

POTASSIO LATTATO CONCENTRATO STERILE

Potassio lattato soluzione da diluire

Il concentrato sterile di potassio lattato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di potassio lattato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 25,64 per cento *m/V* di potassio lattato in *Acqua per preparazioni iniettabili*. È preparato da *Potassio idrossido* e *Acido lattico*

Contenuto di potassio lattato ($C_3H_5KO_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei lattati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire la soluzione in esame 1 a 50 con *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione ottenuta è compreso tra 6,5 e 8,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 70 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Potassio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Lattato. Ad un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di lattato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Aggiungere successivamente 50 ml di *acetonitrile R*. Effettuare una titolazione

potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale 0,1 mmol di lattato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

POTASSIO PERMANGANATO COMPRESSE PER SOLUZIONE CUTANEA

DEFINIZIONE

Le compresse per soluzione cutanea di potassio permanganato contengono *Potassio permanganato* disperso in adeguati eccipienti.

Contenuto di potassio permanganato ($KMnO_4$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse viola scuro, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. Polverizzare cautamente alcune compresse. Sospendere una quantità di polvere, corrispondente a 500 mg di potassio permanganato, in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 10 ml di *alcool R* e 3 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R*. Si sviluppa una colorazione verde. Scaldare all'ebollizione. Si forma un precipitato bruno scuro.
- B. Filtrare la miscela ottenuta nel saggio di identificazione A. Il filtrato dà la reazione caratteristica (b) del potassio (2.3.1).

SAGGI

Tempo di dissoluzione. Non superiore a 30 min in acqua a 37 ± 2 °C.

Povidone-iodio unguento

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare cautamente non meno di 10 compresse. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata pari a circa 300 mg di potassio permanganato, in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. A 20,0 ml della soluzione aggiungere 20 ml di *acqua R*, 1 g di *potassio ioduro R* e 10 ml di *acido cloridrico diluito R*. Titolare lo iodio liberato con *sodio tiosolfato 0,1 M*, utilizzando come indicatore 1 ml di *amido soluzione R*.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 3,160 mg di KMnO_4 .

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dall'umidità.

Le compresse contengono 100 o 250 mg di potassio permanganato.

POVIDONE-IODIO SOLUZIONE CUTANEA

Iodopovidone soluzione

La soluzione cutanea al povidone-iodio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La soluzione ha la seguente composizione:

<i>Povidone-iodio</i>	10	g
<i>Sodio fosfato dibasico dodecaidrato</i>	3,32	g
<i>Acido citrico anidro</i>	0,84	g
<i>(o Acido citrico monoidrato)</i>	(0,92)	g
<i>Acqua depurata q.b. a</i>	100	g

Contenuto di iodio disponibile (I): non meno dello 0,85 per cento *m/m* e non più dell'1,20 per cento *m/m*.

Preparazione: disciogliere l'*Acido citrico anidro* ed il *Sodio fosfato dibasico dodecaidrato* in 80 g circa di *Acqua depurata*, bollita di recente e lasciata raffreddare a temperatura ambiente. Aggiungere, a porzioni e sotto agitazione, il *Povidone-iodio*. Dopo solubilizzazione, portare a peso con *Acqua depurata*.

CARATTERI

Liquido limpido, di colore rosso-bruno.

IDENTIFICAZIONE

Diluire 0,1 g con *acqua R*, portando al volume di 10 ml. Aggiungere *amido soluzione R*. Si sviluppa un'intensa colorazione blu.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 10 ml aggiungere 10 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e una quantità sufficiente di *acqua R* in modo da ottenere 150 ml di soluzione. Titolare con *sodio tiosolfato 0,02 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,02 M* equivale a 2,538 mg di iodio disponibile.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

POVIDONE-IODIO UNGUENTO

Iodopovidone unguento

L'unguento al povidone-iodio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento ha la seguente composizione:

<i>Povidone-iodio</i>	10	g
<i>Acqua depurata</i>	5	g
<i>Macrogol unguento base</i>	85	g

Contenuto di iodio disponibile (I): non meno dello 0,85 per cento *m/m* e non più dell'1,20 per cento *m/m*.

Preparazione: stemperare il *Povidone-iodio* nell'*Acqua depurata*, bollita di recente; incorporare, a porzioni successive, nell'unguento base, mescolando sino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Unguento rosso-bruno, omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

Diluire 0,1 g di preparazione con *acqua R*, portando al volume di 10 ml. Aggiungere *amido soluzione R*. Si sviluppa un'intensa colorazione blu.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Trasferire 5,00 g di preparazione, esattamente pesati, in un becker da 100 ml. Aggiungere 20 ml di *acqua R* e 20 ml di *cloroformio R*; agitare sino a dispersione della fase grassa nello strato cloroformico. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* utilizzando come indicatore *amido soluzione R*.

1 ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* equivale a 12,69 mg di iodio disponibile.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

PRIMACHINA COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di primachina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di primachina contengono 132 mg di *Primachina difosfato*, corrispondenti a 75 mg di primachina, in adeguati eccipienti.

Contenuto di primachina ($C_{15}H_{21}N_3O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 25 mg di primachina difosfato, con 10 ml di *acqua R* e filtrare.

- A. A 2 ml del filtrato aggiungere 2 ml di *acqua R* ed 1 ml di una soluzione (50 g/l) di *ammonio e cerio solfato R* in *acido nitrico diluito R*; si sviluppa una colorazione violetta.
- B. Alcalinizzare 3 ml del filtrato con *sodio idrossido soluzione diluita R*. Filtrare ed acidificare lo strato acquoso con *acido nitrico R*; la soluzione dà la reazione caratteristica dei fosfati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 150 mg di primachina

base, con 50 ml di *acqua R*; filtrare e lavare il residuo con circa 30 ml di *acqua R* fino ad ottenere un filtrato incolore. Aggiungere al filtrato 5 ml di *acido cloridrico R* ed effettuare la determinazione dell'azoto amminico primario aromatico (2.5.8).

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 25,94 mg di $C_{15}H_{21}N_3O$

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

PROBENECID COMPRESSE

Le compresse di probenecid soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di probenecid contengono *Probenecid* in adeguati eccipienti.

Contenuto di probenecid ($C_{13}H_{19}NO_4S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere corrispondente a circa 0,5 g di probenecid con *alcool R* e filtrare. Concentrare il filtrato per evaporazione, raffreddare e filtrare. Cristallizzare il residuo ottenuto da *alcool al 50 per cento V/V R*; i cristalli ottenuti fondono (2.2.14) tra 195 °C e 200 °C.
- B. La soluzione preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 200 nm e 300 nm (2.2.25), mostra due massimi di assorbimento, rispettivamente a 225 nm e 248 nm.

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere, corrispondente a 0,2 g di probenecid, aggiungere 10 ml di una miscela formata da 9 volumi di *alcool R*, 0,5 volumi di *ammoniaca diluita R2* e 0,5 volumi di *acqua R*. Agitare, centrifugare e raccogliere il soprannatante.

Procainamide compresse

Soluzione di riferimento. Diluire 1,0 ml della soluzione in esame a 100 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 100 volumi di *propanolo R*, 1 volume di *ammoniaca diluita R2* e 1 volume di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 200 mg di probenecid, aggiungere 200 ml di *alcool R* e 5 ml di *acido cloridrico 1 M*; scaldare a b.m. a 70 °C per 30 min, agitare di tanto in tanto, raffreddare, diluire a 250,0 ml con *alcool R* e filtrare, scartando i primi 25 ml del filtrato. A 5,0 ml del filtrato successivo aggiungere 5 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e diluire a 250,0 ml con *alcool R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 248 nm circa, utilizzando come bianco 5 ml di *acido cloridrico 0,1 M* diluiti a 250 ml con *alcool R*. Calcolare il contenuto di $C_{13}H_{19}NO_4S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 332.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di probenecid.

PROCAINAMIDE COMPRESSE

Le compresse di procainamide soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di procainamide contengono *Procainamide cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di procainamide cloridrato ($C_{13}H_{22}ClN_3O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 2 g circa di procainamide cloridrato, aggiungere 20 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. La soluzione soddisfa ai seguenti saggi:

- La soluzione, opportunamente diluita, esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25) mostra un massimo di assorbimento a 280 nm.
- Diluire 1 ml di soluzione a 5 ml con *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica (a) dei cloruri (2.3.1).
- Diluire 1 ml di soluzione a 2 ml con *acqua R*. 1 ml di questa soluzione dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice GF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di compresse polverizzate, corrispondente a 400 mg circa di procainamide cloridrato, aggiungere 20 ml di *metanolo R* al 90 per cento V/V; agitare e filtrare.

Soluzione di riferimento. Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con *metanolo R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 4 volumi di *butanolo R*, 1 volume di *acido acetico glaciale R* e 2 volumi di *acqua R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nessuna macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, ad eccezione della macchia principale, è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 500 mg circa di procainamide cloridrato, aggiungere 50 ml di *acqua R* contenente 5 ml di *acido cloridrico R*, agitare, filtrare e lavare il residuo con 25 ml di *acqua R*. Eseguire sul filtrato la determinazione dell'azoto amminico primario aromatico (2.5.8).

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 27,18 mg di $C_{13}H_{22}ClN_3O$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa e al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 250 mg di procainamide cloridrato.

PROCAINAMIDE PREPARAZIONE INIETTABILE

Procainammide cloridrato fiale

La preparazione iniettabile di procainamide soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di procainamide è una soluzione sterile e apirogena di *Procainamide cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contiene un adatto antiossidante.

Contenuto di procainamide cloridrato ($C_{13}H_{22}ClN_3O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o quasi incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Diluire la preparazione con *acqua R* fino ad ottenere una concentrazione di 10 µg/ml. La soluzione, esaminata tra 220 nm e 350 nm (2.2.25) mostra un massimo di assorbimento a 280 nm circa.
- Dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 6,5.

Endotossine batteriche. Non più di 35 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 10 per cento *m/V* di procainamide cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 500 mg circa di procainamide cloridrato, aggiungere 70 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico diluito R*. Eseguire la determinazione dell'azoto amminico primario aromatico (2.5.8).

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 27,18 mg di $C_{13}H_{22}ClN_3O$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- se la soluzione appare imbrunita, oltre ad un leggero giallo, o se colorata in altro modo, non deve essere usata.

La preparazione contiene il 10 per cento *m/V* di procainamide cloridrato.

PROMETAZINA COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di prometazina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse* (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di prometazina contengono *Prometazina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di prometazina cloridrato ($C_{17}H_{21}ClN_2S$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo della luce.

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di prometazina cloridrato, con 200 ml di *alcool R*, filtrare e portare a secco sotto vuoto il filtrato. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Soddisfa al saggio di identificazione delle fenotiazine mediante cromatografia su strato sottile (2.3.3).
- Disciogliere il residuo, corrispondente a circa 0,100 g di prometazina cloridrato, in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere, goccia a goccia, 1 ml di *acido nitrico R*. Si forma un precipitato che rapidamente si scioglie per dare una soluzione rossa che vira all'arancione e poi al giallo. Scaldare all'ebollizione. La soluzione vira all'arancione e si forma un precipitato rosso-arancio.
- Dà la reazione caratteristica (b) dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa. Agitare la polvere con 10 ml di *acido*

cloridrico 0,2 M. Aggiungere 200 ml circa di *acqua R*, agitare per 15 min e diluire a 500,0 ml con *acqua R*. Filtrare e prelevare 5 ml del filtrato. Aggiungere al filtrato 10 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo a 249 nm circa. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{21}ClN_2S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 910.

Sostanze correlate. Effettuare il saggio al riparo dalla luce. Preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando appropriate lastre di gel di silice.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 100 mg di prometazina cloridrato, con 10 ml di una miscela di 95 volumi di *metanolo R* e 5 volumi di *dietilammina R* e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Soluzione (0,1 g/l) di *isoprometazina SCR* in una miscela di 95 volumi di *metanolo R* e 5 volumi di *dietilammina R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 200 ml con una miscela di 95 volumi di *metanolo R* e 5 volumi di *dietilammina R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 12 cm usando una miscela di 5 volumi di *dietilammina R*, 10 volumi di *acetone R* e 85 volumi di *cicloesano R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame un'eventuale macchia corrispondente alla isoprometazina cloridrato non è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Nessuna macchia ad eccezione della macchia principale e della eventuale macchia corrispondente alla isoprometazina cloridrato è più intensa di quella ottenuta con la soluzione di riferimento (b).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce. Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 50 mg circa di prometazina cloridrato, con 10 ml di *acido cloridrico 0,2 M*, aggiungere circa 200 ml di *acqua R*, agitare per 15 min e diluire a 500,0 ml con *acqua R*. Filtrare e prelevare 5 ml del filtrato. Aggiungere al filtrato 10 ml di *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta, al massimo a 249 nm circa. Calcolare il contenuto di $C_{17}H_{21}ClN_2S$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 910.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 25 mg di prometazina cloridrato.

PROMETAZINA CREMA

La crema di prometazina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La crema di prometazina contiene *Prometazina cloridrato* in un'adeguata base.

Contenuto di prometazina ($C_{17}H_{20}N_2S$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Crema bianca, omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Trasferire una quantità di preparazione in esame, esattamente pesata e corrispondente a 4 mg circa di prometazina cloridrato, in un matraccio tarato da 100,0 ml e portare a volume con *acqua R*. Agitare su agitatore magnetico per 5 min, degassare per 5 min e sonicare per 15 min in un bagno ad ultrasuoni fino a completa dispersione. Trasferire 5 ml della soluzione ottenuta in un matraccio tarato da 50,0 ml, portare a volume con la fase mobile e filtrare (0,45 µm).

Soluzione di riferimento. Pesare esattamente circa 100 mg di *prometazina cloridrato SCR* in un matraccio tarato da 100,0 ml, disciogliere in *acqua R* e portare a volume con lo stesso solvente. Trasferire 5 ml della soluzione ottenuta in un matraccio tarato da 50,0 ml, portare a volume con *acqua R*. Trasferire 2 ml della seconda soluzione in un matraccio tarato da 50,0 ml, portare a volume con la fase mobile e filtrare (0,45 µm).

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *gel di silice otttilsililato per cromatografia R* (5 µm),

- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto, una miscela di 40 volumi di *acetone nitrile R* e 60 volumi di *tampone fosfato soluzione a pH 2,5 R2*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 249 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare separatamente 20 µl di ciascuna soluzione. Il saggio è valido solo se il tempo di ritenzione del picco principale (prometazina) della soluzione in esame è simile a quello del picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Calcolare il contenuto percentuale di prometazina base $C_{17}H_{20}N_2S$ dalle aree dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e con le soluzioni di riferimento.

CONSERVAZIONE

In idoneo contenitore al riparo dalla luce e dal calore.

La crema contiene prometazina cloridrato corrispondente al 2 per cento m/m di prometazina.

PROPIFENAZONE COMPRESSE

Le compresse di propifenazone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di propifenazone contengono *Propifenazone* in adeguati eccipienti.

Contenuto di propifenazone ($C_{14}H_{18}N_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 300 mg di propifenazone, aggiungere 70 ml di *metanolo R*, agitare per 30 min, diluire a 100,0 ml con *metanolo R* e filtrare. Prelevare 1,0 ml di questa soluzione e diluire a 25,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 300 mg di *propifenazone SCR* in *metanolo R* e diluire a 100,0 ml con *metanolo R*. Prelevare 1,0 ml della soluzione ottenuta e diluire a 25,0 ml con la fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,30 m e con diametro interno di 3,9 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto, una miscela di 60 volumi di *metanolo RI* e 40 volumi di una soluzione (1 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* precedentemente aggiustata a pH 3,5 con *acido fosforico R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare, per sei volte, 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. La determinazione quantitativa è valida solo se la deviazione standard relativa delle aree dei picchi del propifenazone è al massimo dell'1,5 per cento e se la risoluzione fra il picco del propifenazone e quelli eventuali dovuti agli eccipienti è almeno 2,0; se necessario aggiustare la concentrazione dei componenti della fase mobile in modo da ottenere la risoluzione richiesta. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. Iniettare 20 µl della soluzione in esame e registrare il cromatogramma alla stessa maniera. Calcolare il contenuto di $C_{14}H_{18}N_2O$ dalle aree del picco ottenuto con la soluzione in esame e la soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 300 mg di propifenazone.

PROPIFENAZONE SUPPOSTE

Le supposte di propifenazone soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni rettali (1145)*.

DEFINIZIONE

Le supposte di propifenazone contengono *Propifenazone* in adeguati eccipienti.

Contenuto di propifenazone (C₁₄H₁₈N₂O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Supposte omogenee, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- Suddividere finemente alcune supposte. Fondere a b.m. con 50 ml di *metanolo R* una quantità di prodotto corrispondente a 300 mg circa di propifenazone. Raffreddare, filtrare ed evaporare a secco il filtrato. Il residuo ottenuto fonde (2.2.14) fra 102 °C e 106 °C.
- Disciogliere 50 mg circa del residuo ottenuto nel saggio di identificazione A in 1 ml di una miscela di volumi uguali di *alcool R* e *acqua esente da anidride carbonica R*. Aggiungere 0,1 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione RI*. Appare una soluzione rosso-brunastra che vira al giallo per aggiunta di 1 ml di *acido cloridrico R*.
- Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. Il picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, al picco principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Suddividere finemente non meno di 20 supposte. Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente pesata e corrispondente a 100 mg di propifenazone, aggiungere 30 ml di una miscela di 1 volume di *acetone R* e 1 volume di *diclorometano R*, agitare fino a dissoluzione completa, diluire a 100,0 ml con *metanolo R* e filtrare. Prelevare 2,0 ml di questa soluzione e diluire a 25,0 ml con la fase mobile, se necessario filtrare di nuovo.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 100 mg di *propifenazone SCR* in 30 ml di una miscela di 1 volume di *acetone R* e 1 volume di *diclorometano R* e diluire a 100,0 ml con *metanolo R*. Prelevare 2,0 ml di questa soluzione e diluire a 25,0 ml con la fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,30 m e con diametro interno di 3,9 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml per minuto, una miscela di 50 volumi di *metanolo RI* e 50 volumi di una soluzione (1 g/l) di *potassio fosfato monobasico R* precedentemente aggiustata a pH 3,5 con *acido fosforico R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm,
- un iniettore a volume fisso.

Iniettare, per sei volte, 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. La determinazione quantitativa è valida solo se la deviazione standard relativa delle aree dei picchi del propifenazone è al massimo dell'1,5 per cento e se la risoluzione fra il picco del propifenazone e gli eventuali picchi dovuti agli eccipienti è almeno 2,0; se necessario aggiustare la concentrazione dei componenti della fase mobile in modo da ottenere la risoluzione richiesta. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. Iniettare 20 µl della soluzione in esame e registrare il cromatogramma nelle stesse condizioni. Calcolare il contenuto di C₁₄H₁₈N₂O dalle aree dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e la soluzione di riferimento.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le supposte contengono 50 mg, 150 mg o 350 mg di propifenazone.

RESERPINA COMPRESSE

Le compresse di reserpina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse (0478)*.

DEFINIZIONE

Le compresse di reserpina contengono *Reserpina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di reserpina ($C_{33}H_{40}N_2O_9$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Comprese bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce.

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 30 mg di reserpina, con *cloroformio R* e filtrare. Evaporare a secco il filtrato. Il residuo ottenuto soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Disciogliere 20,0 mg in *cloroformio R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente. Diluire 1,0 ml di questa soluzione a 100,0 ml con *alcool R*. Esaminata immediatamente tra 230 nm e 350 nm (2.2.25) la soluzione mostra un massimo di assorbimento a 268 nm. L'assorbanza specifica al massimo è compresa tra 265 e 285. Nell'intervallo tra 288 nm e 295 nm la curva mostra un leggero minimo di assorbimento seguito da un flesso o da un leggero massimo di assorbimento; in questo intervallo l'assorbanza specifica è circa 170.
- Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24) in confronto allo spettro ottenuto con *reserpina SCR*. Esaminare le sostanze come dispersione in pasticche.
- Ad 1 mg circa aggiungere 0,1 ml di una soluzione (1 g/l) di *sodio molibdato R* in *acido solforico R*. Appare una colorazione gialla che vira al blu entro 2 min.
- Ad 1 mg circa aggiungere 0,2 ml di una soluzione (10 g/l) di *vanillina R* in *acido solforico R* preparata di recente. Si sviluppa una colorazione rosa entro 2 min.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Ad ogni compressa, finemente polverizzata, aggiungere 10 ml di una soluzione (20 g/l) di *acido citrico R* ed estrarre con tre porzioni successive da 15 ml di *cloroformio R*, agitando, ogni volta, per 2 min. Lavare gli estratti cloroformici riuniti con 10 ml di una soluzione (10 g/l) di *sodio bicarbonato R*. Evaporare a secco la fase cloroformica. Proseguire come indicato nella Determinazione quantitativa a partire dalle parole: «riprendere il residuo con 10 ml di *alcool R* e ...».

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 1 mg circa di reserpina, aggiungere 10 ml di una soluzione (20 g/l) di *acido citrico R* ed estrarre con tre successive porzioni da 15 ml di *cloroformio R*, agitando ogni volta per 2 min. Lavare gli estratti cloroformici riuniti con 10 ml di una soluzione (10 g/l) di *sodio bicarbonato R* e portare al volume di 50 ml con *cloroformio R*. Evaporare a secco a b.m. 10 ml di questa soluzione e riprendere il residuo con 10 ml di *alcool R* e 2 ml di *acido solforico 0,25 M*, riscaldando leggermente. Aggiungere 2 ml di una soluzione (3 g/l) di *sodio nitrito R*, preparata di recente. Mescolare e riscaldare a b.m. a 55 °C per 30 min, raffreddare, aggiungere 1 ml di una soluzione (50 g/l), preparata di recente, di *acido solfammico R*, diluire a 20 ml con *alcool R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 390 nm circa, utilizzando come bianco 10 ml di una soluzione alcoolica trattata nello stesso modo, ma senza l'aggiunta di *sodio nitrito R*. Eseguire, contemporaneamente e nelle stesse condizioni, una prova di confronto con *reserpina SCR*. Calcolare il contenuto di $C_{33}H_{40}N_2O_9$ nel campione in esame, tenendo conto delle assorbanze e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 0,1 mg di reserpina.

RIFAMPICINA CAPSULE

Le capsule di rifampicina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di rifampicina contengono *Rifampicina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di rifampicina ($C_{43}H_{58}N_4O_{12}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere di colore da bruno-rossastra a rosso-bruno di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare il cromatogramma ottenuto nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).
- B. La soluzione, ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 220 nm e 500 nm, mostra quattro massimi di assorbimento (2.2.25) a 237 nm, 254 nm, 334 nm e 475 nm. Il rapporto tra l'assorbanza al massimo a 334 nm e quella a 475 nm è di 1,75 circa.
- C. Sospendere una quantità di polvere, corrispondente a 25 mg circa di rifampicina, in 25 ml di *acqua R*, agitare per 5 min e filtrare. A 5 ml del filtrato aggiungere 1 ml di una soluzione di *ammonio persolfato R* (100 g/l) in *tampone fosfato soluzione a pH 7,4 R* e agitare per alcuni minuti. La colorazione vira dal giallo-arancio al rosso-violetto e non si forma alcun precipitato.

SAGGI

Preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Sostanze correlate. Effettuare una cromatografia su strato sottile (2.2.27) utilizzando una lastra ricoperta di uno strato di *gel di silice G R* impregnata con *tampone fosfato soluzione a pH 6,0 R* e aggiustando il pH se necessario.

Soluzione in esame. Agitare una quantità di polvere corrispondente a 200 mg circa di rifampicina con 10 ml di *cloroformio R* e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Soluzione (20 g/l) di *rifampicina SCR* in *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (b). Soluzione (0,1 g/l) di *3-formilrifamicina SV SCR* in *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (c). Soluzione (0,3 g/l) di *rifampicina chinone SCR* in *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (d). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con *cloroformio R*.

Procedimento. Depositare, separatamente sulla lastra, 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 12 cm con una miscela di 85 volumi di *cloroformio R* e 15 volumi di *metanolo R*. Asciugare la lastra all'aria. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame le macchie corrispondenti alla 3-formilrifamicina SV e alla rifampicina chinone non devono essere più intense delle macchie ottenute rispettivamente con le soluzioni di riferimento (b) e (c). Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale ed alle macchie cor-

rispondenti alla 3-formilrifamicina SV ed alla rifampicina chinone, nessuna di esse deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (d).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare il contenuto di almeno 20 capsule. Agitare una quantità di polvere corrispondente a 0,100 g circa di rifampicina per 10 min con *metanolo R* e portare al volume di 100,0 ml con lo stesso solvente; agitare e filtrare. Diluire 2,0 ml del filtrato a 100,0 ml con *tampone fosfato soluzione a pH 7,4 R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo a 475 nm circa, utilizzando come bianco il *tampone fosfato soluzione a pH 7,4 R*. Calcolare il contenuto di $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 187.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Le capsule contengono 150 mg o 300 mg di rifampicina.

RIFAMPICINA SCIROPPO

Lo sciroppo di rifampicina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia. Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di rifampicina contiene *Rifampicina* in un adeguato veicolo sciropposo aromatizzato.

Contenuto di rifampicina ($C_{43}H_{58}N_4O_{12}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione sciropposa, omogenea dopo agitazione, di colore rosso.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare il cromatogramma ottenuto nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).
- B. La soluzione, ottenuta come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 220 nm e

500 nm, mostra quattro massimi di assorbimento (2.2.25) a 237 nm, 254 nm, 334 nm e 475 nm. Il rapporto tra l'assorbanza al massimo a 334 nm e quella a 475 nm è di 1,75 circa.

- C. Sospendere una quantità di preparazione, corrispondente a 25 mg circa di rifampicina, in 25 ml di *acqua R*, agitare per 5 mm e filtrare. A 5 ml del filtrato aggiungere 1 ml di una soluzione di *ammonio persolfato R* (100 g/l) in *tampone fosfato soluzione a pH 7,4 R* e agitare per alcuni minuti. La colorazione vira dal giallo-arancione al rosso-violento e non si forma alcun precipitato.

SAGGI

Sostanze correlate. Effettuare una cromatografia su strato sottile (2.2.2 7) utilizzando una lastra ricoperta di uno strato di *gel di silice G R* impregnata con *tampone fosfato soluzione a pH 6,0 R* e aggiustando il pH se necessario.

Preparare le soluzioni immediatamente prima dell'uso.

Soluzione in esame. Agitare una quantità di preparazione, corrispondente a 200 mg circa di rifampicina, con 10 ml di *cloroformio R* e filtrare.

Soluzione di riferimento (a). Soluzione (20 g/l) di *rifampicina SCR* in *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (b). Soluzione (0,1 g/l) di *3-formilrifamicina SV SCR* in *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (c). Soluzione (0,3 g/l) di *rifampicina chinone SCR* in *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (d). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con *cloroformio R*.

Procedimento. Depositare, separatamente sulla lastra, 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 12 cm con una miscela di 85 volumi di *cloroformio R* e 15 volumi di *metanolo R*. Asciugare la lastra all'aria. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame le macchie corrispondenti alla 3-formilrifamicina SV e alla rifampicina chinone non devono essere più intense delle macchie ottenute rispettivamente con le soluzioni di riferimento (b) e (c). Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale ed alle macchie corrispondenti alla 3-formilrifamicina SV ed alla rifampicina chinone, nessuna di esse deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (d).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Agitare una quantità di preparazione, corrispondente a 0,100 g circa di rifampicina, per 10 min con *metanolo R*

e portare al volume di 100,0 ml con lo stesso solvente; agitare e filtrare. Diluire 2,0 ml del filtrato a 100,0 ml con *tampone fosfato soluzione a pH 7,4 R*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 475 nm circa, utilizzando come bianco il *tampone fosfato soluzione a pH 7,4 R*. Calcolare il contenuto di $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 187.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene il 2 per cento m/V di rifampicina.

RINGER INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa Ringer soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa Ringer è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,86 per cento m/V di *Sodio cloruro*, lo 0,03 per cento m/V di *Potassio cloruro* e lo 0,03 per cento m/V di *Calcio cloruro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; Cl^-): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro.

Ringer acetato infusione endovenosa

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml della soluzione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*. 1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- somministrare solo a funzionalità renale integra e ad una velocità di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

RINGER ACETATO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa Ringer acetato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa Ringer acetato è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,60 per cento *m/V*

di *Sodio cloruro*, lo 0,03 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,02 per cento *m/V* di *Calcio cloruro* e lo 0,40 per cento *m/V* di *Sodio acetato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; CH_3COO^- ; Cl^-): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml della soluzione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Acetato. Ad un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di acetato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- somministrare solo a funzionalità renale integra e ad una velocità di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

RINGER LATTATO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa Ringer lattato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa Ringer lattato è una soluzione sterile ed apirogena contenente lo 0,60 per cento *m/V* di *Sodio cloruro*, lo 0,04 per cento *m/V* di *Potassio cloruro*, lo 0,027 per cento *m/V* di *Calcio cloruro*, lo 0,260 per cento *m/V* di *Acido lattico* e lo 0,117 per cento *m/V* di *Sodio idrossido* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Può essere preparata utilizzando *Sodio lattato soluzione*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Ca^{2+} ; Cl^- ; $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^-$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del calcio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei lattati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,5 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Saccarosio sciroppo

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio* (*Ca 400 ppm*) *R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml della soluzione a 50,0 ml con *acqua R*, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Lattato. A 20 ml della soluzione in esame aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M* e successivamente, 50 ml di *acetone R*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 11,206 mg (0,1 mmol) di sodio lattato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- somministrare solo a funzionalità renale integra e ad una velocità di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

SACCAROSIO SCIROPPPO

Sciroppo semplice

Lo sciroppo di saccarosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di saccarosio ha la seguente composizione:

<i>Saccarosio</i>	665 g
<i>Acqua depurata</i>	335 g

Può contenere conservanti disciolti nell'*Acqua depurata*.

Preparazione: scaldare all'ebollizione, per 20 min, una quantità sufficiente di *Acqua depurata*; mantenendo la temperatura a 80-85 °C, sciogliervi il *Saccarosio*, agitando bene per disciogliere completamente lo zucchero. Mescolare per omogeneizzare e filtrare subito a caldo

su garza, posta in un imbuto precedentemente riscaldato. Mescolare e portare a peso con *Acqua depurata*, precedentemente bollita per 20 min.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore o quasi incolore, con lieve odore, di sapore molto dolce. Miscibile con *acqua R* e con *alcool R*.

IDENTIFICAZIONE

- A. Mescolare 1 g di preparazione con 10 ml di *acqua R*; scaldare a b.m. 0,05 ml della soluzione ottenuta con 0,5 g di *resorcinolo R* e 2,5 ml di *acido cloridrico R1*. Entro 5 min si sviluppa una colorazione rossa scura.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. A 1,5 g di preparazione aggiungere una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 100 ml con la stessa miscela di solventi; diluire 1:10 con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *saccarosio SCR* e 10 mg di *lattosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 10 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione asciugando accuratamente le deposizioni. Eluire immediatamente per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *diclorometano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un leggero eccesso di *acqua R* produce intorbido della soluzione. Seccare la lastra in una corrente di aria calda. Ripetere l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Seccare la lastra in corrente di aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione di 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Essiccare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e colorazione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a); al di sopra della

macchia principale possono essere presenti macchie di lieve intensità dovute al glucosio e al fruttosio a causa di una lieve inversione. Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta due macchie nettamente separate.

SAGGI

Aspetto. Deve essere limpido (2.2.1) e non più intensamente colorato (*Metodo II*, 2.2.2) della soluzione di riferimento G₆.

Densità relativa (2.2.5). Da 1,32 a 1,33.

Indice di rifrazione (2.2.6). Da 1,448 a 1,458.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, ben riempito, al riparo dalla luce e dal calore.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- ogni eventuale conservante aggiunto.

SALI E GLUCOSIO POLVERE ORALE

Sali per reidratazione orale con glucosio

La polvere orale di sali e glucosio soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per uso orale (1165).

DEFINIZIONE

La polvere orale di sali e glucosio può avere le seguenti composizioni, per singola dose, da disciogliere in 200 ml di acqua:

	A	B
Sodio cloruro	0,7 g	1,0 g
Potassio cloruro	0,3 g	0,020 g
Glucosio monoidrato	4,0 g	3,488 g
Sodio citrato diidrato (o Sodio bicarbonato)	0,58 g (0,5 g)	-
Magnesio cloruro esaidrato	-	0,025 g
Calcio cloruro	-	0,025 g
Potassio fosfato dibasico	-	0,342 g
Croscarmellosa sodica	-	0,050 g

Può contenere adeguati aromatizzanti.

Contenuto di ciascun ione (Na⁺; K⁺; Ca²⁺; Mg²⁺; Cl⁻; HPO₄⁻; C₆H₅O₇⁻³) e di glucosio (C₆H₁₂O₆): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Polvere bianca omogenea.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere, equivalente a 10 mg di glucosio, in 20 ml di una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *fruttosio SCR*, 10 mg di *glucosio SCR*, 10 mg di *lattosio SCR* e 10 mg di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con lo stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare completamente le deposizioni. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *dichloroetano R*. I solventi devono essere misurati accuratamente perché un debole eccesso di acqua provoca torbidità. Asciugare la lastra in corrente di aria calda e ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Asciugare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzare uniformemente con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcol R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colorazione e dimensioni alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

B. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio, del potassio, del calcio, del magnesio, dei cloruri, dei bicarbonati, dei citrati e fosfati (2.3.1).

C. Riscaldare una piccola quantità di polvere con *cupri-tartarica soluzione R*: si produce un precipitato abbondante di ossido di rame.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Scopolamina preparazione iniettabile

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata, in *acqua R* in modo da ottenere una diluizione opportuna.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata, in *acqua R* in modo da ottenere una diluizione opportuna.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata, in *acqua R* in modo da ottenere una diluizione opportuna.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata, in *acqua R* in modo da ottenere una diluizione opportuna.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata, pari a 2 g circa, in 25 ml di *acqua R*, aggiungere 1,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Sodio citrato. Calcinare 2,0 g circa di polvere, esattamente pesata. Dopo raffreddamento far bollire il residuo con 50,0 ml di *acqua R* e 50,0 ml di *acido cloridrico 0,5 M*. Filtrare, lavare il filtro con *acqua R* e titolare nel filtrato l'eccesso di acido con *sodio idrossido 0,5 M*, usando come indicatore *metilarancio R*.

1 ml di *acido cloridrico 0,5 M* equivale a 49,02 mg di $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$.

Glucosio. Aggiungere a 7,0 g circa di polvere, esattamente pesata, 0,2 ml di *ammoniaca diluita R1* e *acqua R* fino a 100,0 ml. Mescolare, lasciare a riposo per alcuni

minuti e determinare il potere rotatorio (2.2.7) in un tubo da 2 dm. L'angolo di rotazione letto, moltiplicato per 1,0425 rappresenta la massa in grammi di $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ contenuta nella soluzione in esame.

Potassio fosfato dibasico. Disciogliere 0,250 g circa, esattamente pesati, in 10 ml di *acqua R* (soluzione a). Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento disciogliendo 0,680 g di *potassio fosfato dibasico R* in *acqua R*, portando al volume di 1000,0 ml. Diluire 25,0 ml di tale soluzione a 100,0 ml con *acqua R* (soluzione b). In tre palloni tarati da 25,0 ml introdurre, rispettivamente, 5,0 ml della soluzione in esame (a), 5,0 ml della soluzione di riferimento (b) e 5,0 ml di *acqua R* (prova in bianco). A ciascuna soluzione aggiungere 10 ml di una soluzione (28 g/l) di *acido solforico R* e mescolare. Aggiungere quindi 2,0 ml di una soluzione (25 g/l) di *ammonio molibdato R* e agitare. Aggiungere 1,0 ml di *acido aminoidrossinaftalensolfonico soluzione R* e diluire a 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare e lasciare a riposo a 20-25 °C per 10 min. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della miscela ottenuta a partire dalla soluzione (a) e di quella ottenuta a partire dalla soluzione di riferimento (b) a 660 nm in confronto con la prova in bianco, osservando rigorosamente lo stesso intervallo di tempo tra la miscelazione delle soluzioni e la misura dell'assorbanza. Calcolare il contenuto di K_2HPO_4 della soluzione in esame dal confronto dei valori delle assorbanze ottenute.

Sodio bicarbonato. Disciogliere 4,0 g circa di polvere, esattamente pesata, in 50 ml di *acqua R* e titolare con *acido cloridrico 0,1 M* usando come indicatore *metilarancio soluzione R*.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 8,40 mg di $NaHCO_3$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce e dall'umidità.

SCOPOLAMINA PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di scopolamina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di scopolamina è una soluzione sterile avente la seguente composizione:

<i>Scopolamina bromidrato</i>	0,25 mg
<i>Acido cloridrico 0,1 M</i>	0,001 mg
<i>Sodio cloruro</i>	9 mg
<i>Acqua per preparazioni iniettabili q.b.</i>	1 ml

Preparazione: disciogliere la *Scopolamina bromidrato* e il *Sodio cloruro* nella quantità prescritta di *Acqua per preparazioni iniettabili* deareata e contenente l'acido cloridrico. Filtrare, ripartire in fiale in corrente d'azoto *R*. Sterilizzare in autoclave a 105 °C per 45 min.

Contenuto di scopolamina bromidrato (C₁₇H₂₂BrNO₄·3H₂O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 1 mg circa di scopolamina bromidrato, posta in una capsula di porcellana, aggiungere 5 gocce di *acido nitrico fumante R* ed evaporare a secco a b.m. Disciogliere il residuo in 2 ml di *acetone R*. Aggiungere 4 gocce di *potassio idrossido soluzione alcoolica R*: si sviluppa una colorazione violetta.
- B. Ad una quantità di preparazione, corrispondente a 1,25 mg circa di scopolamina bromidrato, aggiungere 1 ml di *acido cloridrico 1M*, 0,5 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0* e 1 goccia di una soluzione (10 g/l) di *sodio fluoresceinato R* in *sodio idrossido 0,025 M*; agitare, aggiungere 1 goccia di soluzione (10 g/l) di *cloramina R*. Agitare e lasciare a riposo per 30 s. Aggiungere 2 gocce di una soluzione (5 g/l) di *sodio tiosolfato R* in *sodio idrossido R*: si sviluppa una colorazione rossa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,0 e 6,0.

Endotossine batteriche. Non più di 175 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,025 per cento *m/V* di scopolamina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 10 mg circa di scopolamina bromidrato, aggiungere 20 ml di *ammoniaca diluita RI*; estrarre con tre porzioni da 15 ml ciascuna di *cloroformio R*. Filtrare gli estratti cloroformici riuniti ed evaporare a secco. Disciogliere il residuo con 10 ml di *acido acetico anidro R* scaldando se necessario. Raffreddare

la soluzione e aggiungere 20 ml di *diossano R* e 7 ml di *mercurio(-ico) acetato soluzione R*. Titolare con *acido perclorico 0,01 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido perclorico 0,01 M* equivale a 4,383 mg di C₁₇H₂₂BrNO₄·3H₂O.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

SENNA COMPOSTA POLVERE ORALE

La polvere orale di senna composta soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per uso orale (1165).

DEFINIZIONE

La polvere ha la seguente composizione:

<i>Senna foglia</i>	40 g
<i>Frangola corteccia</i>	30 g
<i>Anice stellato</i>	30 g

Preparazione: polverizzare finemente le droghe, setacciarle e mescolarle accuratamente.

CARATTERI

Polvere di colore giallo-verdastro, di aspetto uniforme, di odore caratteristico di anice.

IDENTIFICAZIONE

Aggiungere a 0,5 g circa di polvere 25 ml di *acido cloridrico diluito R* e riscaldare a b.m. per 15 min. Dopo raffreddamento, agitare la soluzione con 20 ml di *etere R*. Separare lo strato eterico, seccarlo su *sodio solfato anidro R* e filtrarlo. Evaporare la fase eterica a b.m. e raffreddare. Aggiungere al residuo ottenuto 5 ml di *ammoniaca diluita RI*: si ottiene una colorazione gialla o arancione. Scaldare a b.m. per 2 min. Si sviluppa una colorazione viola-rossastra.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

SODIO ACETATO CONCENTRATO STERILE

Il concentrato sterile di sodio acetato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni parenterali (0520)*.

DEFINIZIONE

Il concentrato di sodio acetato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 40,8 per cento *m/V* di *Sodio acetato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio acetato (CH_3COONa): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,10 e 7,70.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 11,70 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Acetato. Ad un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di acetato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

SODIO BICARBONATO COMPRESSE

Le compresse di sodio bicarbonato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse (0478)*.

DEFINIZIONE

Le compresse di sodio bicarbonato contengono *Sodio bicarbonato* disperso in adeguati eccipienti.

Contenuto di sodio bicarbonato (NaHCO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. La polvere dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- B. La polvere dà la reazione caratteristica dei bicarbonati (2.3.1).

SAGGI

Carbonati. Disperdere una quantità di polvere corrispondente a circa 5 g di sodio bicarbonato in 100 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH (2.2.3) della dispersione ottenuta non è superiore a 8,6.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare non meno di 20 compresse. Disperdere¹ una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 150 mg di sodio bicarbonato, in 50 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Titolare con *acido cloridrico 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 8,4 mg di NaHCO_3 .

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 500 mg di sodio bicarbonato.

¹Se gli eccipienti sono solubili in acqua le compresse si disciolgono dando luogo ad una soluzione vera e propria.

SODIO BICARBONATO CONCENTRATO STERILE

Il concentrato sterile di sodio bicarbonato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di sodio bicarbonato è una soluzione sterile ed apirogena contenente l'8,4 per cento *m/V* di Sodio bicarbonato in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio bicarbonato (NaHCO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei bicarbonati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,0 e 8,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 7,0 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Bicarbonato. Diluire 10 ml della soluzione in esame con 50 ml di *acqua R*. Titolare con *acido cloridrico 0,5 M*, usando *metilarancio R* come indicatore.

1 ml di *acido cloridrico 0,5 M* equivale a 30,5 mg di HCO_3^- .

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

SODIO BICARBONATO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa di sodio bicarbonato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di sodio bicarbonato è una soluzione sterile ed apirogena contenente Sodio bicarbonato in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio bicarbonato (NaHCO_3): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

*La soluzione può contenere sodio edetato R (non più dello 0,01 per cento *m/V*). Il pH può essere corretto mediante aggiunta di anidride carbonica R.*

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei bicarbonati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,0 e 8,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,83 U.I./ml per una soluzione di riferimento all'1 per cento *m/V*.

Sodio calcio edetato concentrato sterile

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Bicarbonato. Titolare un volume della soluzione in esame, esattamente misurato ed equivalente a 1 g di sodio bicarbonato, con *acido cloridrico 0,5 M*, usando *metilarancio R* come indicatore.

1 ml di *acido cloridrico 0,5 M* equivale a 30,5 mg di HCO_3^- .

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- per le soluzioni a concentrazione superiore all'1,4 per cento *m/V* "Soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione".

La soluzione contiene l'1,4 per cento m/V, il 5 per cento m/V, il 7,5 per cento m/V o l'8,4 per cento m/V di sodio bicarbonato.

SODIO CALCIO EDETATO CONCENTRATO STERILE

Calcio edetato bisodico fiale da diluire

Il concentrato sterile di sodio calcio edetato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato sterile di sodio calcio edetato è una soluzione ipertonica, sterile ed apirogena per preparazioni iniettabili contenente il 10 per cento *m/V* di *Sodio calcio edetato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio calcio edetato ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{CaN}_2\text{Na}_2\text{O}_8$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Evaporare a secco una quantità di preparazione, corrispondente a 500 mg circa di sodio calcio edetato, e calcinare. Il residuo dà le reazioni caratteristiche del calcio e del sodio (2.3.1).
- Aggiungere ad un volume di preparazione, corrispondente a 2 g circa di sodio calcio edetato, 6 ml di *piombo nitrato soluzione R* e 3 ml di *potassio ioduro soluzione R*: non si deve formare un precipitato giallo. Alcalinizzare con *ammoniaca diluita R2* al *tornasole cartina rossa R*, aggiungere 3 ml di *ammonio ossalato soluzione R*: si forma un precipitato bianco.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,5 e 8,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 17,5 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 10 per cento *m/V* di sodio calcio edetato.

Nella MDV del saggio diluire ad almeno 0,1 mg/ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 500 mg circa di sodio calcio edetato, aggiungere 100 ml di *acqua R*. Aggiustare il pH tra 2,2 e 2,6 con *acido nitrico diluito R* ed aggiungere 0,5 ml di *difenilcarbazono soluzione R*. Titolare con *mercurio(-ico) nitrato 0,1 M* fino a comparsa di colorazione porpora.

1 ml di *mercurio(-ico) nitrato 0,1 M* equivale a 37,43 mg di $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{CaN}_2\text{Na}_2\text{O}_8$.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione ipertonica endovenosa da usare solo dopo opportuna diluizione, con precauzione e a velocità controllata di infusione.

SODIO CARBONATO GOCCE AURICOLARI

Le gocce auricolari di sodio carbonato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni auricolari (0652).

DEFINIZIONE

Le gocce auricolari di sodio carbonato hanno la seguente composizione:

Sodio carbonato decaidrato	6 g
Glicerolo 85 per cento	64 g
Acqua depurata	30 g

Contenuto di sodio carbonato decaidrato ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: disciogliere il Sodio carbonato decaidrato nell'Acqua depurata, bollita di recente; alla soluzione ottenuta aggiungere il Glicerolo 85 per cento.

CARATTERI

Liquido viscoso, limpido, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione è alcalina al tornasole R.
B. Dà la reazione caratteristica dei carbonati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 5 ml di preparazione aggiungere 20 ml di acqua R e titolare con acido cloridrico 0,1 M usando come indicatore metilarancio-xilene cianolo FF soluzione R.

1 ml di acido cloridrico 0,1 M equivale a 14,305 mg di $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

SODIO CITRATO COMPRESSE

Le compresse di sodio citrato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di sodio citrato contengono Sodio citrato in adeguati eccipienti.

Contenuto di sodio citrato ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. La polvere dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
B. La polvere dà la reazione caratteristica dei citrati (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Scaldare fino a calcinazione una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 2 g circa di sodio citrato. Lasciar raffreddare e poi far bollire il residuo con 50 ml di acqua R e 50 ml di acido cloridrico 0,5 M. Filtrare, lavare il filtro con acqua R e titolare nel filtrato l'eccesso di acido con sodio idrossido 0,5 M usando come indicatore metilarancio soluzione R.

1 ml di acido cloridrico 0,5 M equivale a 49,02 mg di $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 500 mg di sodio citrato.

SODIO CITRATO CONCENTRATO STERILE

Il concentrato sterile di sodio citrato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di sodio citrato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 56,7 per cento *m/V* di Sodio citrato e il 2,7 per cento *m/V* di Acido citrico monoidrato in Acqua per preparazioni iniettabili.

Contenuto di sodio citrato ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di acido citrico monoidrato ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore o leggermente giallo paglierino.

Sodio citrato e acido citrico preparazione iniettabile

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei citrati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 5,56 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio citrato. Titolare 50,0 ml della soluzione in esame, esattamente misurati, con *acido cloridrico 1 M* fino a pH $2,00 \pm 0,05$ determinato al potenziometro.

1 ml di *acido cloridrico 1 M* equivale a 98,03 mg di $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$.

Acido citrico. Titolare 20,0 ml della soluzione in esame, esattamente misurati, con *sodio idrossido 0,2 M* in presenza di *fenolftaleina soluzione R1* fino al viraggio al rosa.

1 ml di *sodio idrossido 0,2 M* equivale a 14,01 mg di $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

SODIO CITRATO PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di sodio citrato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di sodio citrato è una soluzione sterile e apirogena di *Sodio citrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio citrato ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

La preparazione dà le reazioni caratteristiche del sodio e dei citrati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 7,5 e 8,8.

Endotossine batteriche. Non più di 5,56 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 3,8 per cento *m/V* di sodio citrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

In una capsula introdurre un volume esattamente misurato di preparazione in esame corrispondente a circa 150 mg di sodio citrato. Portare a secco a b.m. Essiccare il residuo a 105 °C. Disciogliere il residuo in 20 ml di *acido acetico anidro R*, scaldando a circa 50 °C. Titolare con *acido perclorico 0,1 M*, utilizzando come indicatore 0,25 ml di *naftolbenzeina soluzione R*, fino a che il colore vira al verde.

1 ml di *acido perclorico 0,1 M* equivale a 9,803 mg di $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$.

La soluzione contiene il 3,8 per cento m/V di sodio citrato.

SODIO CITRATO E ACIDO CITRICO PREPARAZIONE INIETTABILE

La preparazione iniettabile di sodio citrato e acido citrico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di sodio citrato e acido citrico è una soluzione sterile e apirogena di *Sodio citrato* e *Acido citrico monoidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio citrato ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di acido citrico monoidrato ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

La preparazione dà le reazioni caratteristiche del sodio e dei citrati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,2 e 5,2.

Endotossine batteriche. Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione rispettivamente al 10 per cento *m/V* di sodio citrato e al 6 per cento *m/V* di acido citrico.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio citrato. Titolare una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 2 g circa di sodio citrato, con *acido cloridrico 1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione ($\text{pH} = 2,00 \pm 0,05$).

1 ml di *acido cloridrico 1 M* equivale a 98,03 mg di $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Acido citrico. Titolare una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 300 mg circa di acido citrico, con *sodio idrossido 0,2 M* utilizzando come indicatore *fenoltaleina soluzione R1*.

1 ml di *sodio idrossido 0,2 M* equivale a 14,01 mg di $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

La soluzione contiene il 10 per cento m/V di sodio citrato e il 6 per cento m/V di acido citrico monoidrato.

SODIO CLORURO CONCENTRATO STERILE

Sodio cloruro soluzione da diluire

Il concentrato sterile di sodio cloruro soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di sodio cloruro è una soluzione sterile ed apirogena contenente l'11,6 per cento *m/V* di *Sodio cloruro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio cloruro (NaCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).

B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 3,57 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Cloruri. Diluire un volume di soluzione, esattamente misurato, equivalente a 0,12 g circa di sodio cloruro con 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

Il concentrato sterile contiene anche il 17,4 per cento m/V di sodio cloruro.

SODIO CLORURO GOCCE NASALI SOLUZIONE

Sodio cloruro gocce nasali
Sodio cloruro gocce nasali viscose

Le gocce nasali soluzione di sodio cloruro soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni nasali (0676).

DEFINIZIONE

Le gocce nasali soluzione di sodio cloruro contengono lo 0,9 per cento *m/m* di *Sodio cloruro* in *Acqua depurata*. Possono contenere idrossietilcellulosa per aumentare la viscosità.

Preparazione: disciogliere il *Sodio cloruro* nell'*Acqua depurata*. La soluzione deve essere incolore e priva di particelle in sospensione. Se necessario filtrare; se si usa un filtro di carta, questo va prima bagnato con 20 ml circa di *Acqua depurata*.

Contenuto di sodio cloruro (NaCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore, di sapore salino, viscoso e contiene idrossietilcellulosa.

IDENTIFICAZIONE

- A. Dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).
- B. Dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Trasferire 1,000 g della preparazione in esame in un contenitore tarato da 100 ml e portare a volume con *acqua R*. A 10,0 ml della soluzione aggiungere 50 ml di *acqua R*, 5 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *dibutile ftalato R*. Agitare. Titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M*, utilizzando 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore, agitando energicamente in prossimità del viraggio.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 5,844 mg di NaCl.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso.

SODIO CLORURO PREPARAZIONI PARENTERALI

Sodio cloruro soluzione perfusioneale
Sodio cloruro fiale

Le preparazioni parenterali di sodio cloruro soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Le preparazioni parenterali di sodio cloruro sono soluzioni sterili ed apirogene contenenti *Sodio cloruro* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio cloruro (NaCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH è compreso tra 4,5 e 7,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I./ml per una soluzione allo 0,9 per cento *m/V* e di 3,57 U.I./ml per una soluzione al 3 per cento *m/V*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Cloruri. Diluire un volume, esattamente misurato e corrispondente a circa 0,25 g di *sodio cloruro R* a 50 ml con *acqua R*. Aggiungere 2 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 5,844 mg di NaCl.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei, ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- per le soluzioni con concentrazione superiore allo 0,9 per cento "Soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione".
- la forma farmaceutica: infusione endovenosa (soluzione perfusionale) o preparazione iniettabile (fiale).

La soluzione di sodio cloruro per infusione endovenosa contiene 9 g/l o 30,0 g/l di sodio cloruro.

La soluzione di sodio cloruro per preparazione iniettabile, distribuita in fiale, contiene 9 g/l di sodio cloruro.

SODIO EDETATO CONCENTRATO STERILE

Sodio edetato fiale da diluire

Il concentrato sterile di sodio edetato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato sterile di sodio edetato è una soluzione ipertonica, sterile e apirogena avente le seguenti composizioni:

<i>Sodio edetato</i>	0,5 g	2 g
<i>Sodio idrossido</i> soluzione (100 g/l)	0,5 ml	2 ml
<i>Acqua per preparazioni iniettabili</i> q.b. a	5 ml	10 ml

Contenuto di sodio edetato ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: sospendere il *Sodio edetato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*, aggiungere, agitando continuamente, la quantità prescritta di *Sodio idrossido* soluzione (100 g/l). Riscaldare fino a dissoluzione, raffreddare, aggiustare il pH a 7,4. Portare a volume, filtrare e ripartire in fiale da 5 ml o da 10 ml in corrente di *azoto R*. Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 min.

CARATTERI

Soluzione limpida incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. A 5 ml di *acqua R* aggiungere 2 gocce di *ammonio tiocianato soluzione R* e 2 gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione R2*. A questa soluzione rossa aggiungere, goccia a goccia, la preparazione in esame e mescolare: il colore rosso scompare e la soluzione vira al giallo.
- B. Ad un volume di preparazione corrispondente a 300 mg circa di sodio edetato, aggiungere 8 ml di *acqua R* e 15 ml di *acido cloridrico 2 M*; si forma un precipitato cristallino che, lavato ed essiccato, fonde (2.2.14) tra 239 °C e 246 °C.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,5 e 7,5.
Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 20 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 10 per cento *m/V* di sodio edetato.

Nella MDV del saggio diluire ad almeno 0,15 mg/ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a 500 mg circa di sodio edetato, aggiungere 25 ml di *acqua R*, 10 ml di *tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10,0 R* e qualche cristallino di *nero mordente II R*, come indicatore. Titolare con *zinco solfato 0,1 M* fino a che il colore vira dall'azzurro al violetto.

1 ml di *zinco solfato 0,1 M* equivale a 37,22 mg di $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione ipertonica endovenosa da usare solo dopo opportuna diluizione, con precauzione e a velocità controllata.

SODIO FLUORURO COMPRESSE

Le compresse di sodio fluoruro soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di sodio fluoruro contengono *Sodio fluoruro* in adeguati eccipienti.

Contenuto di sodio fluoruro (NaF): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Disperdere 20 compresse finemente polverizzate in 25 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. Il filtrato soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Dà la reazione caratteristica (a) del sodio (2.3.1).
- Evaporare a secco 10 ml ed aggiungere al residuo 0,1 ml di *alizarina S soluzione R* e 0,1 ml di *zirconile nitrato soluzione R*. Si sviluppa una colorazione rossa che poi passa al giallo.

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). Polverizzare finemente ogni compressa, aggiungere *tampone soluzione a pH 7,5 R* in modo da ottenere una soluzione contenente 5 µg/ml di ione fluoruro. Scaldare a b.m. per 25 min. Centrifugare per 10 min e diluire 20 ml del liquido sopranatante limpido a 100,0 ml con la soluzione tampone. Calcolare il contenuto di sodio fluoruro come descritto nella Determinazione quantitativa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Soluzione in esame. Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Trasferire in un pallone tarato da 100 ml una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 0,5 mg di ione fluoruro. Aggiungere 75 ml di *tampone soluzione a pH 7,5 R* e, dopo riscaldamento a b.m. per 25 min e successivo raffreddamento, portare a volume con *tampone soluzione a pH 7,5 R* sotto agitazione. Centrifugare per 10 min e diluire 20 ml del liquido sopranatante limpido a 100 ml con la soluzione tampone.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 221,1 mg di *sodio fluoruro R*, precedentemente essiccati a 110 °C per 24 h ed accuratamente pesati, in 20 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e diluire a 100 ml con *acqua R* (1 mg/ml di ione fluoruro).

Soluzioni di riferimento. Al momento dell'uso, prelevare dalla soluzione di riferimento (a) aliquote corrispondenti a 0,8 ml, 1,2 ml, 1,6 ml e 2,0 ml; diluire ciascuna aliquota a 1000,0 ml con *tampone soluzione a pH 7,5 R* (0,08; 0,12; 0,16 e 0,20 µg/ml di ione fluoruro).

Misurare il potenziale, usando un adatto pHmetro provvisto di un elettrodo indicatore di ioni fluoruro e di un elettrodo di riferimento a calomelano, su una aliquota di ciascuna soluzione di riferimento diluita. Registrare i valori dei potenziali, in millivolt, delle varie diluizioni iniziando da quella più bassa e costruire una curva di taratura su scala semilogaritmica riportando sulle ascisse la concentrazione dello ione fluoruro espressa in milligrammi per 100 ml e sulle ordinate i relativi potenziali misurati. Ripetere la stessa operazione utilizzando la soluzione in esame. Calcolare il contenuto di NaF nel campione in esame dal potenziale letto dalla curva di taratura e moltiplicando la concentrazione determinata per 11,05 (coefficiente di diluizione e di rapporto sodio fluoruro/ione fluoruro).

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la quantità equivalente di ione fluoruro.

Le compresse contengono 0,55 mg o 2,2 mg di sodio fluoruro equivalente a 0,25 mg o 1 mg di fluoro rispettivamente.

SODIO FOSFATO SOLUZIONE RETTALE

Sodio fosfato acido clisma

La soluzione rettale di sodio fosfato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145).

DEFINIZIONE

La soluzione rettale di sodio fosfato contiene *Sodio fosfato monobasico diidrato* e *Sodio fosfato dibasico dodecaidrato* in *Acqua depurata*.

Può contenere un adatto antimicrobico.

Contenuto di sodio fosfato monobasico diidrato (NaH₂PO₄·2H₂O): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio fosfato dibasico dodecaidrato (Na₂HPO₄·12H₂O): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La preparazione dà le reazioni caratteristiche dei fosfati (2.3.1).
 B. La preparazione dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 1,2 g circa di fosfati, aggiungere 15,0 ml di *sodio idrossido 0,5 M* e 95 ml di *acqua R*. Usando *acido cloridrico 0,5 M* titolare potenziometricamente (2.2.20) fino al primo punto di flesso.

1 ml di *acido cloridrico 0,5 M* equivale a 78,0 mg di $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Continuare la titolazione fino al secondo punto di flesso della curva.

1 ml di *acido cloridrico 0,5 M* equivale a 179,0 mg di $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$.

La preparazione contiene il 18 per cento *m/V* di sodio fosfato monobasico diidrato e l'8 per cento *m/V* di sodio fosfato dibasico dodecaidrato.

SODIO INDIGOTINDISOLFONATO PREPARAZIONE INIETTABILE

Sodio indigotindisolfonato fiale

La preparazione iniettabile di sodio indigotindisolfonato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni parenterali (0520)*.

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di sodio indigotindisolfonato è una soluzione sterile e apirogena. Può avere le composizioni seguenti:

<i>Sodio indigotindisolfonato</i>	40	mg	80	mg
<i>Saccarosio</i>	1	g	0,5	g
<i>Acqua per preparazioni iniettabili</i>				
q.b. a	10	ml	5	ml

Contenuto di sodio indigotindisolfonato ($\text{C}_{16}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_8 \cdot \text{S}_2\text{Na}_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: disciogliere il *Saccarosio* e il *Sodio indigotindisolfonato* nell'*Acqua per preparazioni iniettabili*, bollita di recente, riscaldando leggermente. Raffreddare, portare a volume e filtrare. Ripartire in corrente di *azoto R*, in fiale di vetro tipo I e sterilizzare.

CARATTERI

Soluzione limpida, di colore blu.

IDENTIFICAZIONE

- A. Aggiungere *acido cloridrico R*; il colore della preparazione cambia in blu-violetto; per diluizione con *acqua R* il colore ritorna alla tonalità originale.
 B. Evaporare a secco una quantità di preparazione corrispondente a 200 mg circa di sodio indigotindisolfonato. Il residuo, dopo incenerimento, dà le reazioni caratteristiche del sodio e dei solfati (2.3.1).
 C. Aggiungere *sodio idrossido 1 M*; il colore della preparazione vira al giallo o al giallo bruno.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 3,0 e 6,5.

Endotossine batteriche. Non più di 20 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione allo 0,40 per cento *m/V* di sodio indigotindisolfonato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire la preparazione con *acido cloridrico 0,1 M* fino ad ottenere una concentrazione di 0,015 mg/ml circa di sodio indigotindisolfonato. Misurare l'assorbanza (2.2.25) al massimo di assorbimento a 610 nm usando come bianco *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare contemporaneamente l'assorbanza di una soluzione di riferimento contenente *sodio indigotindisolfonato SCR* nello stesso ambiente, avente una concentrazione nota pari a circa 0,015 mg/ml. Calcolare la quantità in milligrammi di $\text{C}_{16}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_8 \cdot \text{S}_2\text{Na}_2$ nella preparazione dal rapporto delle assorbanze tenendo conto della concentrazione della soluzione di riferimento di sodio indigotindisolfonato e della diluizione. L'assorbanza specifica è di circa 400.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

Sodio nitroprussiato concentrato sterile

SODIO LATTATO CONCENTRATO STERILE

Sodio lattato soluzione da diluire

Il concentrato sterile di sodio lattato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di sodio lattato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 22,42 per cento *m/V* di sodio lattato in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Può essere preparato utilizzando *Sodio lattato soluzione*.

Contenuto di sodio lattato ($C_3H_5NaO_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
B. La soluzione dà la reazione caratteristica dei lattati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,5 e 8,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 14 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Lattato. Ad un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di lattato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Aggiungere successivamente 50 ml di *acetoneitrile R*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di lattato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

Il concentrato sterile di sodio lattato contiene anche il 33,63 per cento m/V di sodio lattato.

SODIO NITROPRUSSATO CONCENTRATO STERILE

Sodio nitroprussiato fiale da diluire

Il sodio nitroprussiato concentrato sterile soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il sodio nitroprussiato concentrato sterile ha la seguente composizione per fiala:

<i>Sodio nitroprussiato</i> anidro	100 mg
<i>Sodio citrato</i>	250 mg
<i>Metile paraidrossibenzoato</i>	8 mg
<i>Propile paraidrossibenzoato</i>	1 mg
<i>Acqua per preparazioni iniettabili</i> q.b. a	5 ml

Preparazione: disciogliere il *Metile paraidrossibenzoato* e il *Propile paraidrossibenzoato* in parte dell'*Acqua per preparazioni iniettabili* all'ebollizione. Raffreddare e sciogliere il *Sodio nitroprussiato* e il *Sodio citrato*. Filtrare, portare a volume e sterilizzare mediante filtrazione su membrana da 0,2 μ m proteggendo la soluzione dalla luce. Ripartire in fiale da 5 ml proteggendo dalla luce.

Contenuto di sodio nitroprussiato ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida di colore rosso ambrato.

IDENTIFICAZIONE

- A. Alla preparazione aggiungere una soluzione (100 g/l) di *rame(-ico) nitrato R*. Si forma un precipitato verde.
- B. Alla preparazione aggiungere *sodio carbonato soluzione R* ed alcune gocce di *acetone R*; si sviluppa una colorazione rosso scura che vira al violetto per aggiunta di un eccesso di *acido acetico R* o di *ammonio solfato R*.
- C. Alla preparazione aggiungere una soluzione (100 g/l) di *calcio cloruro R*; la soluzione rimane limpida; per riscaldamento, dà un precipitato bianco cristallino solubile in *acido acetico R*.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 8,0 e 8,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 1190,4 U.I. di endotossine per millilitro. Per la soluzione diluita (100 µg/ml) non più di 5,95 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di preparazione, esattamente misurato e corrispondente a 100 mg di sodio nitroprussiato, aggiungere 45 ml di *acqua R*, 0,1 ml di *acido solforico 1 M* e 20 ml di *alcool R*. Titolare con *argento nitrato 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione usando un sistema di elettrodi di argento-mercurio(-oso) solfato.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 13,10 mg di $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ben chiuso, protetto dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- la temperatura di conservazione,
- soluzione concentrata da iniettare dopo diluizione in 1000 ml di *Glucosio infusione endovenosa al 5 per cento* (soluzione 0,01 per cento).

SODIO NITROPRUSSIATO PREPARAZIONE INIETTABILE

Sodio nitroprussiato
polvere sterile per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di sodio nitroprussiato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di sodio nitroprussiato è una soluzione sterile preparata da *Sodio nitroprussiato* liofilizzato contenente il 2 per cento *m/m* di *Povidone* e da una soluzione di *Glucosio preparazione parenterale* al 5 per cento *m/V*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso diluendo il *Sodio nitroprussiato* nella prescritta quantità di soluzione di *Glucosio preparazione parenterale* al 5 per cento *m/V* e diluendo ulteriormente la soluzione ottenuta, secondo quanto indicato, con lo stesso solvente.

Sodio nitroprussiato
per preparazioni iniettabili

Il sodio nitroprussiato per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il sodio nitroprussiato per preparazioni iniettabili è una polvere sterile di *Sodio nitroprussiato* contenente il 2 per cento *m/m* di *Povidone* ottenuta mediante liofilizzazione di una appropriata soluzione. E' fornita in contenitori saldati.

Contenuto di sodio nitroprussiato nel liofilizzato ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Il liofilizzato è una polvere color ocre, inodore, igroscopica.

IDENTIFICAZIONE

- A. Disciogliere il contenuto di un contenitore in 10 ml di *acqua R*. La soluzione, esaminata tra 350 nm e

Sodio salicilato compresse gastroresistenti

600 nm (2.2.25) presenta un solo massimo di assorbimento a 395 nm circa. L'assorbanza specifica a questo massimo è circa 1,1.

- B. Alla soluzione ottenuta nella reazione di identificazione A, aggiungere *sodio carbonato soluzione R* e alcune gocce di *acetone R*; si sviluppa una colorazione rosso scura che vira al violetto per aggiunta di un eccesso di *acido acetico R* o di *ammonio solfato R*.
- C. Dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

SAGGI

Soluzione S. Disciogliere il liofilizzato nella prescritta fiala di solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S è limpida (2.2.1) e colorata in bruno-rossastro.

pH (2.2.3). Il pH della soluzione S è compreso tra 4,3 e 4,7.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 1000,0 U.I. di endotossine per millilitro. Per la soluzione diluita (100 g/ml) non più di 5,00 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Riunire il contenuto di almeno 10 contenitori. Disciogliere 0,15 g della polvere, esattamente pesati, in 50 ml di *acqua R*, aggiungere 0,1 ml di *acido solforico 1 M* e 20 ml di *alcool R*. Titolare con *argento nitrato 0,1 M* e determinare il punto di equivalenza al potenziometro utilizzando un elettrodo di argento come elettrodo di misura ed un elettrodo al mercurio(-oso) cloruro come elettrodo di riferimento.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 13,10 mg di $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- che la soluzione concentrata ottenuta disciogliendo il liofilizzato con il solvente deve essere protetta dalla luce, utilizzata immediatamente e iniettata per infusione endovenosa solo dopo opportuna

diluizione in 1000 ml di *Glucosio preparazione parenterale* al 5 per cento *m/V* (soluzione allo 0,01 per cento),

- che la preparazione diluita deve essere protetta dalla luce rivestendo il contenitore con materiale opaco ed utilizzata immediatamente o al massimo entro 24 ore se mantenuta fra + 2 °C e + 8 °C,
- che la preparazione concentrata ricostituita, normalmente di colore bruno-rossastro, non deve essere utilizzata se presenta una colorazione diversa per intensità o per viraggio (al verde o al blu).

I contenitori di polvere contengono 100 mg di Sodio nitroprussiato polvere sterile e le fiale di solvente contengono 5 ml di glucosio preparazione parenterale al 5 per cento m/V.

SODIO SALICILATO COMPRESSE GASTRORESISTENTI

Le compresse gastroresistenti di sodio salicilato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse gastroresistenti di sodio salicilato contengono *Sodio salicilato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di sodio salicilato ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse gastroresistenti, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare con 10 ml di *acqua R* una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di sodio salicilato, e filtrare.

- A. A 5 ml del filtrato, aggiungere 1 ml di *acido solforico diluito R*: si forma un precipitato bianco di acido salicilico che, raccolto su filtro, lavato abbondantemente con *acqua R* ed essiccato a 100-105 °C, fonde (2.2.14) tra 158 °C e 161 °C.
- B. Diluire 1 ml di filtrato a 10 ml con *acqua R*, aggiungere una goccia di *ferro(-ico) cloruro soluzione R*: si sviluppa una colorazione violetta intensa.
- C. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 75 mg circa di sodio salicilato, con 30 ml di *acqua R* bollente, filtrare e lavare accuratamente il filtro con 20 ml di *acqua R* calda. Aggiungere 25 ml di *potassio bromato 0,2 M*, 1 g di *potassio bromuro R*, 10 ml di *acido cloridrico diluito R* e lasciare a riposo per 15 min. Aggiungere 1 g di *potassio ioduro R*, lasciare a riposo per altri 10 min e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M*, agitando energicamente ed usando come indicatore *amido soluzione R*.

1 ml di *potassio bromato 0,2 M* equivale a 5,336 mg di $C_7H_5NaO_3$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 500 mg di sodio salicilato.

SODIO STIBOGLUCONATO PREPARAZIONE INIETTABILE

Sodio stibogluconato soluzione iniettabile

La preparazione iniettabile di sodio stibogluconato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di sodio stibogluconato è una soluzione, sterile e apirogena, contenente il 33,3 per cento *m/V* di *Sodio stibogluconato in Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di antimonio pentavalente Sb(V): non meno del 9,5 per cento *m/V* e non più del 10,5 per cento *m/V*.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore.

IDENTIFICAZIONE

- Diluire una quantità di preparazione, corrispondente a 50 mg circa di sodio stibogluconato, a 10 ml con *acqua R* facendo gorgogliare per parecchi minuti *acido solfidrico R*: si forma un precipitato giallo.
- Evaporare a secco una quantità di preparazione ed incenerire; il residuo dà le reazioni caratteristiche del sodio e dell'antimonio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 5,6.

Endotossine batteriche. Non più di 25 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 33 per cento *m/V* di sodio stibogluconato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione, esattamente misurata e corrispondente a 160 mg circa di sodio stibogluconato, aggiungere 10 ml di *acido cloridrico R*, 70 ml di *acido solforico R* e agitare. Titolare con *ferro(-oso) ammonico solfato 0,05 M*, preparato utilizzando *acqua R* contenente 20 ml/litro di una soluzione (500 ml/litro) di *acido solforico R*. Determinare potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione utilizzando un elettrodo di platino come elettrodo di misura e un elettrodo di argento-argento cloruro come elettrodo di riferimento.

1 ml di *ferro(-oso) ammonico solfato 0,05 M* equivale a 3,044 mg di Sb(V).

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

SODIO TIOSOLFATO CONCENTRATO STERILE

Sodio tiosolfato soluzione da diluire

Il concentrato sterile di sodio tiosolfato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato di sodio tiosolfato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 10 per cento *m/V* di *Sodio tiosolfato* e lo 0,6 per cento *m/V* di *Sodio bicarbonato in Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio tiosolfato ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).

Sodio tiosolfato infusione endovenosa

- B. Aggiungere alla soluzione in esame alcune gocce di *iodio 0,1 M*: il colore caratteristico dello iodio scompare.
- C. Per aggiunta di *acido cloridrico R*, la soluzione diventa torbida e si sviluppano vapori di anidride solforosa.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,5 e 9.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 3 U.I./ml.

Solfati (2.4.13). A 3,0 ml di soluzione aggiungere *iodio 0,1 M* sino a decolorazione e diluire a 15 ml con *acqua R*. La soluzione soddisfa al saggio limite per i solfati (0,2 per cento).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire 5,0 ml di soluzione, dopo aggiunta di *acido cloridrico diluito R* fino a pH 7 circa, a 20 ml con *acqua R* e titolare con *iodio 0,05 M*, utilizzando *amido soluzione R* come indicatore.

1 ml di *iodio 0,05 M* equivale a 24,82 mg di $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente idoneo ermeticamente chiuso al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

SODIO TIOSOLFATO INFUSIONE ENDOVENOSA

L'infusione endovenosa di sodio tiosolfato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

L'infusione endovenosa di sodio tiosolfato è una soluzione sterile ed apirogena contenente il 25 per cento *m/V* di *Sodio tiosolfato* e l'1,5 per cento *m/V* di *Sodio bicarbonato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di sodio tiosolfato ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- A. La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- B. A 5 ml della soluzione aggiungere *iodio soluzione R* goccia a goccia. Il reattivo si decolora e la miscela non dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).
- C. A 5 ml della soluzione aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R*. Si forma un precipitato bianco che rapidamente diventa giallo e si sviluppano vapori di anidride solforosa che colorano in blu l'*amido iodurata cartina R*.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 8,0 e 8,5.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 3 U.I./ml.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire una quantità di soluzione contenente 0,500 g di sodio tiosolfato a circa 20 ml di *acqua R*. Aggiungere *acido cloridrico diluito R* fino a pH 7 circa. Titolare con *iodio 0,05 M* utilizzando come indicatore *amido soluzione R*.

1 ml di *iodio 0,05 M* equivale a 24,82 mg di $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione endovenosa ipertonica da somministrare con precauzione a velocità controllata di infusione.

**SOLUZIONE PER CIRCOLAZIONE
EXTRACORPOREA**

Soluzione cardioplegica St. Thomas II

DEFINIZIONE

La soluzione per circolazione extracorporea è una soluzione sterile e apirogena che si ottiene miscelando al momento dell'uso due soluzioni: "A" e "B".

La soluzione A contiene 3,215 g di *Sodio cloruro*, 0,595 g di *Potassio cloruro*, 1,625 g di *Magnesio cloruro*, 0,09 g di *Calcio cloruro* e *Acqua per preparazioni iniettabili* q.b. a 480 ml.

La soluzione B contiene 0,42 g di *Sodio bicarbonato* e *Acqua per preparazioni iniettabili* q.b. a 20 ml.

Al momento dell'uso al contenitore da 500 ml, contenente 480 ml di soluzione A aggiungere, con tecnica asettica, la soluzione B contenuta nella fiala da 20 ml.

Contenuto di ciascun ione nella soluzione finale A + B (Na^+ ; K^+ ; Ca^{+2} ; Mg^{+2} ; Cl^- ; HCO_3^-): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzioni (A, B e A + B) limpide ed incolori; praticamente esenti da particelle.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione finale (A + B) dà le reazioni caratteristiche del sodio (2.3.1).
- La soluzione finale (A + B) dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).
- La soluzione finale (A + B) dà le reazioni caratteristiche del calcio (2.3.1).
- La soluzione finale (A + B) dà le reazioni caratteristiche del magnesio (2.3.1).
- La soluzione finale (A + B) dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).
- La soluzione finale (A + B) dà le reazioni caratteristiche del bicarbonato (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione A è compreso tra 5,5 e 6,0. Il pH della soluzione B è compreso tra 8,2 e 8,6. Il pH della soluzione finale A + B è compreso tra 7,6 e 8,0.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa al saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro per la soluzione A, non più di 0,30 U.I. di endotossine per millilitro per la soluzione B e non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro per la soluzione finale A + B.

Contaminazione particellare. Effettuare il saggio per le particelle non visibili (2.9.19) usando 50 ml della soluzione A+B. La soluzione contiene non più di 25 particelle per millilitro con dimensioni superiori a 10 μm e non più di 3 particelle per millilitro con dimensioni superiori a 25 μm .

Pirogeni (2.6.8). Le soluzioni per le quali non può essere effettuato un saggio convalidato per le endotossine batteriche soddisfano al saggio dei pirogeni. Se non diversamente indicato e autorizzato, iniettare 10 ml della soluzione in esame per chilogrammo di massa corporea dell'animale.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Effettuare le determinazioni sulla soluzione finale A + B.

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio* (*Na 200 ppm*) *R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrofotometria di emissione atomica (*Metodo I*, 2.2.22).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio* (*K 100 ppm*) *R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Calcio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio* (*Ca 400 ppm*) *R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm.

Magnesio. Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzione polisalinica con potassio concentrato sterile

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm.

Cloruri. Diluire 10 ml di soluzione con 10 ml di *acqua R*. Aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Bicarbonato. Titolare un volume della soluzione in esame, esattamente misurato ed equivalente a 1 g di sodio bicarbonato, con *acido cloridrico 0,5 M*, usando *metilarancio R* come indicatore.

1 ml di *acido cloridrico 0,5 M* equivale a 30,5 mg di HCO_3^- .

CONSERVAZIONE

Soluzione A: in contenitori idonei da 500 ml, ermeticamente chiusi, contenenti 480 ml di soluzione.

Soluzione B: in fiale o in contenitori sterili, ermeticamente chiusi, contenenti 20 ml di soluzione.

Soluzione A+B: da utilizzare entro 24 h dalla sua costituzione.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- l'intervallo di pH,
- l'osmolarità teorica,
- la composizione della soluzione finale in mmoli/l e g/l,
- al momento dell'uso aggiungere con tecnica asettica la soluzione B alla soluzione A ed agitare,
- usare esclusivamente per circolazione extracorporea. Non iniettare,
- non utilizzare la soluzione B se è presente un precipitato,
- il volume nominale della soluzione nel contenitore,
- che ciascuna porzione inutilizzata della soluzione pronta per l'uso deve essere scartata,
- le condizioni di conservazione.

SOLUZIONE POLISALINICA CON POTASSIO CONCENTRATO STERILE

Soluzioni polisaliniche con potassio I e II

La soluzione polisalinica con potassio concentrato sterile soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La soluzione polisalinica con potassio è una soluzione sterile ed apirogena di *Sodio cloruro*, *Potassio cloruro*, *Sodio idrossido*, *Acido lattico*, *Sodio fosfato monobasico diidrato* e *Sodio fosfato dibasico diidrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Può essere preparata anche utilizzando *Sodio lattato soluzione*.

Contenuto di ciascun ione (Na^+ ; K^+ ; Cl^- ; $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^-$) e fosfati ($\text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{HPO}_4^{2-}$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica del potassio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei lattati (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei fosfati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire la soluzione 1:50 con *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione ottenuta è compreso tra 7,0 e 7,5 per la soluzione I (vedi Tabella) e tra 6,5 e 7,8 per la soluzione II (vedi Tabella).

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,5 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II*, 2.2.22).

Soluzione polisalinica senza potassio concentrato sterile

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Potassio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 767 nm.

Cloruri. Diluire 5,0 ml di soluzione con 250 ml di *acqua R*. A 50,0 ml della soluzione ottenuta, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Lattato. Diluire 5,0 ml della soluzione in esame con 50 ml di *acqua R*. Aggiungere 20 ml di una soluzione (100 g/l) di *acido solforico R* e 50 ml di *potassio permanganato 0,02 M*. Lasciare al buio per 1 h agitando frequentemente. Aggiungere 20,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio ioduro R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* (ml = A) usando *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una prova in bianco contemporaneamente e nelle stesse condizioni (ml = B). La differenza (B-A) rappresenta i ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* consumati nella titolazione.

Indicando con:

V_1 il volume di *potassio permanganato 0,02 M* aggiunto,

V_2 il volume di *sodio tiosolfato 0,1 M* consumato,

il volume V di *potassio permanganato 0,02 M* consumato dall'acido lattico presente nel campione in esame è dato da :

$$V = V_1 - V_2$$

1 ml di *potassio permanganato 0,02 M* equivale a 0,1 mmol di lattato.

Fosfato. Diluire un volume esattamente misurato della soluzione in esame con *acqua R* in modo da ottenere una soluzione con concentrazione presunta di 0,10 mg/ml di fosfato (soluzione a). Preparare una soluzione di riferimento di *potassio fosfato monobasico R* in *acqua R*, di concentrazione nota e molto vicina a 0,10 mg di KH_2PO_4 per ml. In tre palloni tarati da 25,0 ml introdurre, rispettivamente, 5,0 ml della soluzione a, 5,0 ml di soluzione di riferimento e 5 ml di *acqua R* (prova in bianco). A ciascuna delle 3 soluzioni

aggiungere mescolando ogni volta con cura, 10,0 ml di una soluzione (28 g/l) di *acido solforico R*, 2,0 ml di una soluzione (25 g/l) di *ammonio molibdato R* e 1,0 ml di *acido aminoidrossinaftalensolfonico soluzione R*.

Diluire a 25,0 ml con *acqua R*. Mescolare e lasciare a riposo a 20-25 °C per 10 min.

Ad uguale distanza di tempo dalla miscelazione, misurare a 660 nm, l'assorbanza (2.2.25) della soluzione (a) e della soluzione di riferimento. Usare la soluzione della prova in bianco come liquido di compensazione.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione,
- somministrare solo a funzionalità renale integra e ad una velocità di infusione non superiore a 10 mmoli di potassio/h.

Le soluzioni polisaliniche con potassio I e II hanno le composizioni riportate in Tabella:

Tabella

Componenti	Soluzione I	Soluzione II
<i>Acido lattico</i>	90,0 g	90,0 g
<i>Sodio idrossido</i>	40,0 g	40,0 g
<i>Sodio cloruro</i>	73,0 g	138,5 g
<i>Potassio cloruro</i>	74,0 g	9,35 g
<i>Sodio fosfato monobasico diidrato</i>	7,8 g	3,90 g
<i>Sodio fosfato dibasico diidrato</i>	40,0 g	20,0 g
<i>Acqua per preparazioni iniettabili q.b. a</i>	1000 ml	1000 ml

SOLUZIONE POLISALINICA SENZA POTASSIO CONCENTRATO STERILE

La soluzione polisalinica senza potassio concentrato sterile soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La soluzione polisalinica senza potassio è una soluzione sterile ed apirogena contenente l'11,7 per cento m/V di *Sodio cloruro*, il 4,5 per cento m/V di *Acido*

Soluzione polialinica senza potassio concentrato sterile

lattico, il 2,0 per cento *m/V* di *Sodio idrossido* e il 4,1 per cento *m/V* di *Sodio acetato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Può essere preparata anche utilizzando *Sodio lattato soluzione*.

Contenuto di sodio cloruro (NaCl): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio lattato (C₃H₅NaO₃): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio acetato (CH₃COONa): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

- La soluzione dà la reazione caratteristica del sodio (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica dei lattati (2.3.1).
- La soluzione dà la reazione caratteristica degli acetati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Diluire la soluzione 1:50 con *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione ottenuta è compreso tra 7,0 e 7,8.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,50 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo II, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Diluire opportunamente la soluzione in esame con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'intensità di emissione a 589 nm.

Cloruri. Diluire 5,0 ml di soluzione con 250 ml di *acqua R*. A 50,0 ml della soluzione ottenuta, aggiungere 2,0 ml di una soluzione (90 g/l) di *potassio cromato R* e titolare con *argento nitrato 0,1 M*.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg (0,1 mmol) di ione cloruro.

Lattato. Diluire 5,0 ml della soluzione in esame con 50 ml di *acqua*. Aggiungere 20 ml di una soluzione (100 g/l) di *acido solforico R* e 50 ml di *potassio permanganato 0,02 M*. Lasciare al buio per 1 h agitando frequentemente. Aggiungere 20,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *potassio ioduro R* e titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* (ml = A) usando *amido soluzione R* come indicatore. Effettuare una prova in bianco contemporaneamente e nelle stesse condizioni (ml = B). La differenza (B-A) rappresenta i ml di *sodio tiosolfato 0,1 M* consumati nella titolazione.

Indicando con:

V₁ il volume di *potassio permanganato 0,02 M* aggiunto,

V₂ il volume di *sodio tiosolfato 0,1 M* consumato,

il volume V di *potassio permanganato 0,02 M* consumato dall'acido lattico presente nel campione in esame è dato da :

$$V = V_1 - V_2$$

1 ml di *potassio permanganato 0,02 M* equivale a 0,1 mmol di lattato.

Acetato. In un pallone da distillazione introdurre 1,0 ml della soluzione in esame, 2 ml di una soluzione (250 g/l) di *acido fosforico R* e 100 ml di *acqua R*. Riscaldare e distillare fino quasi a secco, raccogliendo il distillato in una beuta contenente 20,0 ml di *sodio idrossido 0,1 M*. Titolare l'eccesso di *sodio idrossido 0,1 M* con *acido cloridrico 0,1 M* in presenza di *fenoltaleina soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di acetato.

CONSERVAZIONE

In recipienti idonei ermeticamente chiusi.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione concentrata da usare solo dopo opportuna diluizione.

0209

**SOLUZIONI ANTICOAGULANTI
E CONSERVANTI
PER IL SANGUE UMANO**

Solutiones anticoagulantes et sanguinem
humanum conservantes

DEFINIZIONE

Le soluzioni anticoagulanti e conservanti per il sangue umano sono soluzioni sterili e apirogene preparate con acqua per preparazioni iniettabili, filtrate, ripartite nei recipienti finali e sterilizzate. Il contenuto di sodio citrato ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), di glucosio monoidrato ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$) o di glucosio anidro ($C_6H_{12}O_6$) e di sodio fosfato monobasico diidrato ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$) non è meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento di quello dichiarato nella formulazione riportata di seguito. Il contenuto di acido citrico monoidrato ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) o di acido citrico anidro ($C_6H_8O_7$) non è meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento di quello dichiarato nella formulazione riportata di seguito. Previo accordo dell'Autorità competente possono essere incluse nella formulazione altre sostanze, come conservanti dei globuli rossi, purché il loro nome e la loro concentrazione sia indicata in etichetta.

Le soluzioni anticoagulanti e conservanti per il sangue umano sono contenute in recipienti di vetro (3.2.1) o di plastica (3.2.3) ermeticamente chiusi, con chiusura inviolabile.

**Soluzioni anticoagulanti
acido-citrato-glucosio (ACD)**

	A	B
Sodio citrato (0412)	22,0 g	13,2 g
Acido citrico monoidrato (0456)	8,0 g	4,8 g
o Acido citrico anidro (0455)	7,3 g	4,4 g
Glucosio monoidrato (0178)*	24,5 g	14,7 g
o Glucosio anidro (0177)*	22,3 g	13,4 g
Acqua per preparazioni iniettabili (0169) fino a	1000,0 ml	1000,0 ml
Volume da usare per 100 ml di sangue	15,0 ml	25,0 ml

* L'Autorità competente può richiedere che la sostanza sod-disfi al saggio dei pirogeni riportato rispettivamente nelle monografie *Glucosio monoidrato (0178)* e *Glucosio anidro (0177)*.

CARATTERI

Liquido limpido, incolore o leggermente giallo, praticamente esente da particelle.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire 2 ml della soluzione in esame (per la formulazione A) o 3 ml (per la formulazione B) a 100 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg, rispettivamente, di *glucosio SCR*, di *lattosio SCR*, di *fruttosio SCR* e di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare accuratamente i punti di deposizione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *etilene cloruro R*. I volumi dei solventi devono essere misurati accuratamente perché un piccolo eccesso di acqua può provocare intorbidamento. Essiccare la lastra in corrente d'aria calda. Ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Essiccare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzarla con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensioni, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

B. A 2 ml aggiungere 5 ml di *cupri-citrica soluzione R* e scaldare all'ebollizione. Si forma un precipitato arancione e la soluzione diventa gialla.

C. A 2 ml (per la formulazione A) aggiungere 3 ml di *acqua R* o a 4 ml (per la formulazione B) aggiungere 1 ml di *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica dei citrati (2.3.1).

D. 0,5 ml danno la reazione caratteristica (b) del sodio (2.3.1).

Soluzioni anticoagulanti e conservanti per il sangue umano

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 4,7 e 5,3.

Idrossimetilfurfurale. A 2,0 ml aggiungere 5,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *p-toluidina R* in *2-propanolo R* contenente il 10 per cento *V/V* di *acido acetico glaciale R* e 1,0 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido barbiturico R*. L'assorbanza (2.2.25) misurata a 550 nm dopo aver lasciato a riposo la miscela per 2-3 min, non è superiore a quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo usando 2,0 ml di una soluzione contenente 5 ppm di *idrossimetilfurfurale R* per la formulazione A o 3 ppm di *idrossimetilfurfurale R* per la formulazione B.

Sterilità (2.6.1). Soddisfano al saggio di sterilità.

Pirogeni (2.6.8). Soddisfano al saggio dei pirogeni. Diluire con una soluzione apirogena (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere una soluzione contenente approssimativamente 5 g/l di sodio citrato. Iniettare 10 ml della soluzione diluita per chilogrammo di massa del coniglio.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Acido citrico. A 10,0 ml (per la formulazione A) o a 20,0 ml (per la formulazione B) aggiungere 0,1 ml di *fenolftaleina soluzione R1*. Titolare con *sodio idrossido 0,2 M* fino ad ottenere una colorazione rosa.

1 ml di *sodio idrossido 0,2 M* equivale a 14,01 mg di $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ o a 12,81 mg di $C_6H_8O_7$.

Sodio citrato. Preparare una colonna cromatografica lunga 0,10 m e del diametro interno di 10 mm riempita con *resina a scambio ionico fortemente acida R* (300-840 μm). Mantenere lo strato di liquido sempre 1 cm al di sopra della resina. Lavare la colonna con 50 ml di *acqua R* deionizzata ad una velocità di flusso di 12-14 ml per minuto.

Diluire 10,0 ml della soluzione in esame (per la formulazione A) o 15,0 ml (per la formulazione B) a circa 40 ml con *acqua R* deionizzata entro un recipiente e trasferirli nel serbatoio della colonna lavando il recipiente, per tre volte, con alcuni millilitri di *acqua R* deionizzata. Lasciare scorrere la soluzione attraverso la colonna ad una velocità di flusso di 12-14 ml per minuto e raccogliere l'eluato. Lavare la colonna con due porzioni, ciascuna da 30 ml, e con una porzione da 50 ml, di *acqua R* deionizzata. La colonna può essere impiegata per tre determinazioni successive prima di essere rigenerata usando una quantità di *acido cloridrico diluito R* pari a tre volte il suo volume. Titolare l'eluato

e i lavaggi riuniti (circa 150 ml) con *sodio idrossido 0,2 M*, usando 0,1 ml di *fenolftaleina soluzione R1* come indicatore.

Calcolare il contenuto di sodio citrato in grammi per litro mediante le espressioni seguenti:

per la formulazione A: $1,961n - 1,40C$ o $1,961n - 1,53C'$

per la formulazione B: $1,307n - 1,40C$ o $1,307n - 1,53C'$

n = numero di millilitri di *sodio idrossido 0,2 M* usato nella titolazione,

C = contenuto di acido citrico monoidrato in grammi per litro determinato come sopra descritto,

C' = contenuto di acido citrico anidro in grammi per litro determinato come sopra descritto.

Zuccheri riducenti. Diluire 5,0 ml (per la formulazione A) o 10,0 ml (per la formulazione B) a 100,0 ml con *acqua R*. Introdurre 25,0 ml della soluzione in una beuta con tappo a smeriglio da 250 ml ed aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R1*. Aggiungere alcuni pezzetti di materiale poroso, collegare ad un refrigerante, scaldare in modo che l'ebollizione sia raggiunta entro 2 min e bollire per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolto in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere, con cautela e in piccole porzioni, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando, come indicatore, 0,5 ml di *amido soluzione R* aggiunto verso la fine della titolazione (n_1 ml). Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R* (n_2 ml). Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti come glucosio anidro o come glucosio monoidrato, a seconda del caso, dalla Tabella 209-1.

Tabella 209.-1.

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> ($n_2 - n_1$ ml)	Glucosio anidro in milligrammi	Glucosio monoidrato in milligrammi
8	19,8	21,6
9	22,4	24,5
10	25,0	27,4
11	27,6	30,2
12	30,3	33,1
13	33,0	36,1
14	35,7	39,0
15	38,5	42,1
16	41,3	45,2

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile, protetto dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- la composizione e il volume della soluzione,
- la quantità massima di sangue da raccogliere nel recipiente.

Soluzione anticoagulante citrato-fosfato-glucosio (CPD)

<i>Sodio citrato (0412)</i>	26,3	g
<i>Acido citrico monoidrato (0456)</i>	3,27	g
o <i>Acido citrico anidro (0455)</i>	2,99	g
<i>Glucosio monoidrato (0178)*</i>	25,5	g
o <i>Glucosio anidro (0177)*</i>	23,2	g
<i>Sodio fosfato monobasico diidrato (0194)</i>	2,51	g
<i>Acqua per preparazioni iniettabili (0169)</i> fino a	1000,0	ml
Volume da usare per 100 ml di sangue	14,0	ml

CARATTERI

Liquido limpido, incolore o leggermente giallo, praticamente esente da particelle.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Diluire 2 ml della soluzione in esame a 100 ml con una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *glucosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg, rispettivamente, di *glucosio SCR*, di *lattosio SCR*, di *fruttosio SCR* e di *saccarosio SCR* in una miscela di 2 volumi di *acqua R* e 3 volumi di *metanolo R* e diluire a 20 ml con la stessa miscela di solventi.

Deporre separatamente sulla lastra 2 µl di ciascuna soluzione ed asciugare accuratamente i punti di deposizione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 10 volumi di *acqua R*, 15 volumi di *metanolo R*, 25 volumi di *acido acetico anidro R* e 50 volumi di *etilene cloruro R*. I volumi

* L'Autorità competente può richiedere che la sostanza soddisfi al saggio dei pirogeni riportato rispettivamente nelle monografie *Glucosio monoidrato (0178)* e *Glucosio anidro (0177)*.

dei solventi devono essere misurati accuratamente perché un piccolo eccesso di acqua può provocare intorbidamento. Essiccare la lastra in corrente d'aria calda. Ripetere immediatamente l'eluizione dopo aver rinnovato la fase mobile. Essiccare la lastra in corrente d'aria calda e spruzzarla con una soluzione contenente 0,5 g di *timolo R* in una miscela di 5 ml di *acido solforico R* e 95 ml di *alcool R*. Scaldare a 130 °C per 10 min. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione, colore e dimensioni, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta quattro macchie nettamente separate.

B. A 2 ml aggiungere 5 ml di *cupri-citrica soluzione R* e scaldare all'ebollizione. Si forma un precipitato arancione e la soluzione diventa gialla.

C. A 2 ml aggiungere 3 ml di *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica dei citrati (2.3.1).

D. 1 ml dà la reazione caratteristica (b) dei fosfati (2.3.1).

E. 0,5 ml danno la reazione caratteristica (b) del sodio (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,3 e 5,9.

Idrossimetilfurfurale. A 2,0 ml aggiungere 5,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *p-toluidina R* in *2-propanolo R* contenente il 10 per cento V/V di *acido acetico glaciale R* e 1,0 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido barbiturico R*. L'assorbanza (2.2.25), misurata a 550 nm dopo aver lasciato a riposo la miscela per 2-3 min, non è superiore a quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo usando 2,0 ml di una soluzione contenente 5 ppm di *idrossimetilfurfurale R*.

Sterilità (2.6.1). Soddisfa al saggio di sterilità.

Pirogeni (2.6.8). Soddisfa al saggio dei pirogeni. Diluire con una soluzione apirogena (9 g/l) di *sodio cloruro R* in modo da ottenere una soluzione contenente approssimativamente 5 g/l di sodio citrato. Iniettare 10 ml della soluzione diluita per chilogrammo di massa del coniglio.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio fosfato monobasico. Diluire 10,0 ml a 100,0 ml con *acqua R*. A 10,0 ml di questa soluzione aggiungere 10,0 ml di *nitro-vanadomolibdico reattivo R*. Mescolare e lasciare a riposo a 20-25 °C per 30 min. Preparare, contemporaneamente e nello stesso modo, una soluzione di riferimento usando 10,0 ml di una soluzione standard contenente 0,219 g di *potassio fosfato monobasico R* per litro. Misurare l'assorbanza (2.2.25) delle due soluzioni a 450 nm usando come bianco una soluzione preparata nello stesso modo usando 10 ml di *acqua R*. Calcolare il contenuto di sodio fosfato monobasico diidrato (P) in grammi per litro mediante l'espressione:

$$\frac{11,46 \times C \times A_1}{A_2}$$

C = concentrazione di *potassio fosfato monobasico R* nella soluzione standard in grammi per litro,

A_1 = assorbanza della soluzione in esame,

A_2 = assorbanza della soluzione di riferimento.

Acido citrico. A 20,0 ml aggiungere 1,0 ml di *fenolftaleina soluzione R1* e titolare con *sodio idrossido 0,2 M*. Calcolare il contenuto di acido citrico monoidrato (C) o di acido citrico anidro (C') in grammi per litro mediante le espressioni seguenti:

$$C = 0,7005n - 0,4490P$$

$$C' = 0,6404n - 0,4105P$$

n = numero di millilitri di *sodio idrossido 0,2 M* usato nella titolazione,

P = contenuto di sodio fosfato monobasico diidrato in grammi per litro determinato come sopra descritto.

Sodio citrato. Preparare una colonna cromatografica lunga 0,10 m e del diametro interno di 10 mm riempita con *resina a scambio ionico fortemente acida R* (300-840 μm). Mantenere lo strato di liquido sempre 1 cm al di sopra della resina. Lavare la colonna con 50 ml di *acqua R* deionizzata ad una velocità di flusso di 12-14 ml per minuto.

Diluire 10,0 ml della soluzione in esame a circa 40 ml con *acqua R* deionizzata in un recipiente e trasferirli nel serbatoio della colonna lavando il recipiente, per tre volte, con alcuni millilitri di *acqua R* deionizzata. Lasciar scorrere la soluzione attraverso la colonna ad una velocità di flusso di 12-14 ml per minuto e raccogliere l'eluato. Lavare la colonna con due porzioni, ciascuna da 30 ml, e con una porzione da 50 ml, di *acqua R* deionizzata. La colonna può essere impiegata per tre determinazioni successive prima di essere rige-

nerata usando una quantità di *acido cloridrico diluito R* pari a tre volte il suo volume. Titolare l'eluato e i lavaggi riuniti (circa 150 ml) con *sodio idrossido 0,2 M*, usando 0,1 ml di *fenolftaleina soluzione R1* come indicatore.

Calcolare il contenuto di sodio citrato in grammi per litro mediante le espressioni seguenti:

$$1,961n - 1,257P - 1,40C$$

$$1,961n - 1,257P - 1,53C'$$

n = numero di millilitri di *sodio idrossido 0,2 M* usato nella titolazione,

P = contenuto di sodio fosfato monobasico diidrato in grammi per litro determinato come sopra descritto.

C = contenuto di acido citrico monoidrato in grammi per litro determinato come sopra descritto,

C' = contenuto di acido citrico anidro in grammi per litro determinato come sopra descritto.

Zuccheri riducenti. Diluire 5,0 ml a 100,0 ml con *acqua R*. Introdurre 25,0 ml della soluzione in una beuta con collo a smeriglio da 250 ml ed aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R1*. Aggiungere alcuni pezzetti di materiale poroso, collegare ad un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione inizi entro 2 min e bollire per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolto in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere, con cautela e in piccole porzioni, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando, come indicatore, 0,5 ml di *amido soluzione R* aggiunto verso la fine della titolazione (n_1 ml). Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R* (n_2 ml).

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti come glucosio anidro o come glucosio monoidrato, a seconda del caso, dalla Tabella 209-1.

CONSERVAZIONE

Conservare in un recipiente ermeticamente chiuso, con chiusura inviolabile, protetto dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- la composizione e il volume della soluzione,
- la quantità massima di sangue da raccogliere nel recipiente.

0862

SOLUZIONI PER DIALISI PERITONEALE

Solutiones ad peritonealem dialysim

DEFINIZIONE

Le soluzioni per dialisi peritoneale sono preparazioni per uso intraperitoneale contenenti elettroliti in concentrazione molto simile a quella della composizione elettrolitica del plasma. Contengono glucosio in concentrazione variabile o altri agenti osmotici adatti.

Le soluzioni per dialisi peritoneale sono fornite in:

- recipienti di plastica semirigida o rigida,
- recipienti di plastica flessibili dotati di uno speciale dispositivo di connessione; essi sono generalmente riempiti ad un volume inferiore alla loro capacità nominale e contenuti in involucri protettivi sigillati,
- recipienti di vetro.

I recipienti e le chiusure soddisfano ai requisiti dei recipienti per le preparazioni per uso parenterale (3.2.1 e 3.2.2).

Si utilizzano diverse formulazioni. Le concentrazioni dei componenti per litro di soluzione si trovano generalmente nei seguenti intervalli:

Tabella 0862.-1.

	Espressione in mmol	Espressione in mEq
Sodio	125-150	125-150
Potassio	0-4,5	0-4,5
Calcio	0-2,5	0-5,0
Magnesio	0,25-1,5	0,5-3,0
Acetati e/o lattati e/o bicarbonato	30-60	30-60
Cloruri	90-120	90-120
Glucosio	25-250	

Se è presente il bicarbonato, la soluzione di sodio bicarbonato è fornita in un contenitore o in un compartimento separato ed è aggiunta alla soluzione di elettrolita immediatamente prima dell'uso.

Antiossidanti come il metabisolfito non sono aggiunti alle soluzioni, salvo indicazione contraria, giustificata e autorizzata.

IDENTIFICAZIONE

In relazione alla composizione dichiarata la preparazione in esame dà le seguenti reazioni di identificazione (2.3.1):

- potassio: reazione (b),
- calcio: reazione (a),
- sodio: reazione (b),
- cloruri: reazione (a),
- acetati: a 5 ml della preparazione in esame aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R* in una provetta dotata di un tappo e di un tubo a gomito, scaldare e raccogliere alcuni millilitri del distillato; effettuare la reazione (b) degli acetati sul distillato,
- lattati, bicarbonati: l'identificazione è eseguita insieme alla determinazione quantitativa,
- magnesio: a 0,1 ml di *giallo titanio soluzione R* aggiungere 10 ml di *acqua R*, 2 ml della preparazione in esame e 1 ml di *sodio idrossido 1 M*; appare una colorazione rosa,
- glucosio: a 5 ml della preparazione in esame aggiungere 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 0,05 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R*; la soluzione è blu e limpida; scaldare all'ebollizione; si forma un abbondante precipitato rosso.

SAGGI

Aspetto della soluzione. La preparazione in esame è limpida (2.2.1) e non più intensamente colorata della soluzione di riferimento G₄ (*Metodo I*, 2.2.2).

pH (2.2.3). Il pH della preparazione in esame è compreso tra 5,0 e 6,5. Se la soluzione contiene bicarbonato il pH è compreso tra 6,5 e 8,0.

Idrossimetilfurfurale. Ad un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio, aggiungere 5,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *p-toluidina R* in *2-propanolo R* contenente il 10 per cento V/V di *acido acetico glaciale R* e 1,0 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido barbiturico R*. L'assorbanza (2.2.25) determinata a 550 nm dopo aver lasciato riposare la miscela per 2-3 min non è maggiore di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo utilizzando una soluzione contenente 10 µg di *idrossimetilfurfurale R* in un volume identico a quello della preparazione in esame. Se la soluzione contiene bicarbonato, utilizzare come standard una soluzione contenente 20 µg di *idrossimetilfurfurale R*.

Alluminio (2.4.17). Prelevare 400 ml della preparazione in esame, portare il pH a 6,0 ed aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R*. La soluzione sod-

Soluzioni per dialisi peritoneale

disfa al saggio limite per l'alluminio (15 µg/l). Usare come soluzione di riferimento una miscela di 3 ml della *soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm) R*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 9 ml di *acqua R*. Per preparare il bianco usare una miscela di 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 10 ml di *acqua R*.

Contaminazione particellare. Effettuare il saggio per le particelle non visibili (2.9.19) utilizzando 50 ml di soluzione.

Tabella 0862.-2.

Particelle con dimensioni superiori a	10 µm	25 µm
Numero massimo di particelle per millilitro	25	3

Volume estraibile (2.9.17). La preparazione in esame soddisfa al saggio descritto per le infusioni parenterali.

Sterilità (2.6.1). La preparazione in esame soddisfa al saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Meno di 0,25 U.I. di endotossine per millilitro.

Pirogeni (2.6.8). Le preparazioni per le quali non può essere effettuato un saggio convalidato per le endotossine batteriche soddisfano al saggio dei pirogeni. Iniettare 10 ml della soluzione per ogni chilogrammo di massa del coniglio.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Dal 97,5 per cento al 102,5 per cento del contenuto di sodio (Na) indicato in etichetta, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo II, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Se necessario diluire la preparazione in esame con *acqua R* ad una concentrazione appropriata per lo strumento da usare.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 589,0 nm utilizzando una lampada a catodo cavo al sodio come sorgente di radiazione e una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Potassio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di potassio (K) indicato in etichetta, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Se necessario diluire la preparazione in esame con *acqua R* ad una concentrazione appropriata per lo strumento da usare. A 100 ml di questa soluzione aggiungere 10 ml di una soluzione (22 g/l) di *sodio cloruro R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*. A 100 ml di ciascuna soluzione di riferimento aggiungere 10 ml di una soluzione (22 g/l) di *sodio cloruro R*.

Misurare l'assorbanza a 766,5 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al potassio come sorgente di radiazione ed una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Calcio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di calcio (Ca) indicato in etichetta, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Se necessario diluire la preparazione in esame con *acqua R* ad una concentrazione appropriata per lo strumento da usare.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al calcio come sorgente di radiazione ed una fiamma di aria-acetilene o di aria-propano.

Magnesio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di magnesio (Mg) indicato in etichetta, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Se necessario, diluire la preparazione in esame con *acqua R* fino a una concentrazione appropriata per lo strumento da usare.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al magnesio come sorgente della radiazione ed una fiamma di aria-acetilene o di aria-propano.

Cloruri totali. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di cloruri (Cl) indicato in etichetta. Diluire a 50 ml con *acqua R* un volume accuratamente misurato della preparazione in esame contenente l'equivalente di circa 60 mg di ione cloruro. Aggiungere 5 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *dibutile ftalato R*. Agitare. Usando 2 ml di

ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2 come indicatore, titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* fino al viraggio ad una colorazione giallo-rossastra.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Acetato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di acetato indicato in etichetta. A un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di acetato.

Lattato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto indicato in etichetta. A un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di lattato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Aggiungere successivamente 50 ml di *acetone nitrile R*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di lattato.

Sodio bicarbonato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di sodio bicarbonato indicato in etichetta. Titolare con *acido cloridrico 0,1 M*, un volume della soluzione da esaminare corrisponde a circa 0,1 g di sodio bicarbonato, determinando il punto di fine titolazione potenziometricamente (2.2.20).

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 8,40 mg di NaHCO_3 .

Lattato e bicarbonato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di lattati e/o bicarbonati indicato in etichetta. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Soluzione da esaminare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere in 100 ml di *acqua per cromatografia R* quantità di lattati e bicarbonati, accuratamente pesate, in modo da ottenere soluzioni con concentrazioni che rappresentano circa il 90 per cento, il 100 per cento e il 110 per cento delle concentrazioni indicate in etichetta.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna lunga 0,30 m e con diametro interno di 7,8 mm impaccata con *resina a scambio cationico R* (9 μm),

- *acido solforico 0,005 M*, previamente degassato con *elio R*, come fase mobile ad una velocità di flusso di 0,6 ml per minuto,
- come rivelatore un rifrattometro differenziale.

Mantenere la temperatura della colonna a 85 °C.

Iniettare in duplicato 20 μl della soluzione in esame e 20 μl di ciascuna soluzione di riferimento. Se i cromatogrammi sono registrati nelle condizioni prescritte, i picchi sono eluiti nel seguente ordine: lattati poi bicarbonati.

Determinare la concentrazione di lattati e bicarbonati nella soluzione in esame interpolando l'area del picco per il lattato e l'altezza del picco per il bicarbonato dalla regressione lineare della curva ottenuta con le soluzioni di riferimento.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di glucosio indicato in etichetta. Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare a un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolto in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento m/m di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espresso come glucosio anidro ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), mediante la tabella 0862-3.

Tabella 0862.-3.

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

Soluzioni per emodialisi

CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura non inferiore a 4 °C.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- la composizione della soluzione per dialisi peritoneale, espressa in grammi per litro ed in millimoli per litro,
- l'osmolarità calcolata espressa in milliosmoli per litro,
- il volume nominale della soluzione per dialisi peritoneale nel recipiente,
- che la soluzione è esente da endotossine batteriche o, se del caso, che è apirogena,
- le condizioni di conservazione,
- che la soluzione non deve essere utilizzata per infusione intravenosa,
- che le eventuali porzioni di soluzione non utilizzate devono essere scartate.

0128

SOLUZIONI PER EMODIALISI

Solutiones ad haemodialysim

DEFINIZIONE

Le soluzioni per emodialisi sono soluzioni di elettroliti con una concentrazione molto simile alla composizione elettrolitica del plasma. Il glucosio può essere incluso nella formulazione.

A causa dei grandi volumi usati, le soluzioni per emodialisi sono generalmente preparate per diluizione di una soluzione concentrata con acqua di qualità idonea (vedi monografia *Acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi (1167)*), utilizzando, per esempio, un dispositivo di dosaggio automatico.

Soluzioni concentrate per emodialisi

Le soluzioni concentrate per emodialisi sono preparate e conservate utilizzando materiali e metodi adatti a produrre soluzioni con il minor grado possibile di contaminazione microbica. In certe circostanze può essere necessario usare soluzioni sterili.

Durante la diluizione e l'utilizzo devono essere prese delle precauzioni per evitare la contaminazione microbica. Le soluzioni diluite devono essere usate immediatamente dopo la preparazione.

Le soluzioni concentrate per emodialisi sono fornite in:

- recipienti di plastica flessibili, semirigidi o rigidi,
- recipienti di vetro.

Si utilizzano tre tipi di soluzioni concentrate.

1. Soluzioni concentrate con acetato o lattato

Si utilizzano diverse formulazioni di soluzioni concentrate. Le concentrazioni dei componenti nelle soluzioni sono tali che dopo la diluizione al volume indicato le concentrazioni dei componenti per litro sono comprese generalmente nei seguenti intervalli:

Tabella 0128.-1.

	Espressione in mmol	Espressione in mEq
Sodio	130 – 145	130 – 145
Potassio	0 – 3,0	0 – 3,0
Calcio	0 – 2,0	0 – 4,0
Magnesio	0 – 1,2	0 – 2,4
Acetato o lattato	32 – 45	32 – 45
Cloruri	90 – 120	90 – 120
Glucosio	0 – 12,0	

Le soluzioni concentrate con acetato o lattato sono diluite prima dell'uso.

2. Soluzioni concentrate acide

Si utilizzano diverse formulazioni di soluzioni concentrate. Le concentrazioni dei componenti nelle soluzioni sono tali che dopo la diluizione al volume indicato e prima della neutralizzazione con sodio bicarbonato le concentrazioni dei componenti per litro si trovano generalmente nei seguenti intervalli:

Tabella 0128.-2.

	Espressione in mmol	Espressione in mEq
Sodio	80 – 110	80 – 110
Potassio	0 – 3,0	0 – 3,0
Calcio	0 – 2,0	0 – 4,0
Magnesio	0 – 1,2	0 – 2,4
Acido acetico	2,5 – 10	2,5 – 10
Cloruri	90 – 120	90 – 120
Glucosio	0 – 12,0	

Il sodio bicarbonato deve essere aggiunto immediatamente prima dell'uso fino ad una concentrazione finale non superiore a 45 mmol per litro. La soluzione concentrata di sodio bicarbonato è fornita in un recipiente separato. Le soluzioni concentrate acide e le soluzioni concentrate di sodio bicarbonato sono diluite e mescolate immediatamente prima dell'uso utilizzando un dispositivo adatto. Alternativamente, può essere usato sodio bicarbonato solido per preparare la soluzione.

3. Soluzioni concentrate senza tampone

Sono utilizzate diverse formulazioni delle soluzioni concentrate senza tampone. Le concentrazioni dei componenti nelle soluzioni sono tali che dopo la diluizione al volume stabilito le concentrazioni dei componenti per litro si trovano generalmente nei seguenti intervalli:

Tabella 0128.-3.

	Espressione in mmol	Espressione in mEq
Sodio	130 – 145	130 – 145
Potassio	0 – 3,0	0 – 3,0
Calcio	0 – 2,0	0 – 4,0
Magnesio	0 – 1,2	0 – 2,4
Cloruri	130 – 155	130 – 155
Glucosio	0 – 12,0	

Le soluzioni concentrate senza tampone sono utilizzate insieme alla somministrazione parenterale di adatte soluzioni di bicarbonato.

IDENTIFICAZIONE

In base alla composizione dichiarata, la preparazione in esame dà le seguenti reazioni di identificazione (2.3.1):

- potassio: reazione (b),
- calcio: reazione (a),
- sodio: reazione (b),
- cloruri: reazione (a),
- lattati,
- carbonati e bicarbonati,
- acetati:
- se la preparazione in esame non contiene glucosio, utilizzare la reazione (b),
- se la preparazione in esame contiene glucosio, utilizzare il metodo seguente: a 5 ml della preparazione in esame in una provetta provvista di un tappo e di un tubo a gomito aggiungere 1 ml di

acido cloridrico R, scaldare e raccogliere alcuni millilitri del distillato; effettuare la reazione (b) degli acetati sul distillato,

- magnesio: a 0,1 ml di *giallo titanio soluzione R* aggiungere 10 ml di *acqua R*, 2 ml della preparazione in esame e 1 ml di una soluzione (4,2 g/l) di *sodio idrossido R*; appare una colorazione rosa,
- glucosio: a 5 ml della preparazione in esame aggiungere 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 0,05 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R*; la soluzione è blu e limpida; scaldare all'ebollizione; si forma un abbondante precipitato rosso.

SAGGI

Aspetto della soluzione. La preparazione in esame è limpida (2.2.1). Se non contiene glucosio è incolore (*Metodo I*, 2.2.2). Se contiene glucosio non è più intensamente colorata della soluzione di riferimento G₇ (*Metodo I*, 2.2.2).

Alluminio (2.4.17). Non più di 0,1 mg/l.

Soluzione in esame. Prelevare 20 ml della preparazione in esame, portare a pH 6,0 e aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R*.

Soluzione di riferimento. Usare una miscela di 1 ml della *soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm) R*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 9 ml di *acqua R*.

Prova in bianco. Usare una miscela di 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 10 ml di *acqua R*.

Volume estraibile (2.9.17). Il volume misurato non è inferiore al volume nominale indicato in etichetta.

Sterilità (2.6.1). Se l'etichetta indica che la preparazione concentrata per emodialisi è sterile, soddisfa al saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Nella preparazione diluita per l'uso, meno di 0,5 U.I. di endotossine per millilitro.

Pirogeni (2.6.8). Le preparazioni per le quali non può essere effettuato un saggio convalidato per le endotossine batteriche soddisfano al saggio dei pirogeni. Diluire la preparazione in esame con *acqua per preparazioni iniettabili R* fino alla concentrazione prescritta per l'uso. Iniettare 10 ml di questa soluzione per chilogrammo di massa del coniglio.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la densità (2.2.5.) della preparazione in esame e calcolare il contenuto in grammi per litro e in millimoli per litro.

Sodio. Dal 97,5 per cento al 102,5 per cento del contenuto di sodio (Na) indicato in etichetta.

Soluzioni per emodialisi

Determinare mediante spettrometria di emissione atomica (*Metodo I, 2.2.22*).

Soluzione in esame. Prelevare 5 ml della soluzione in esame e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. Diluire 2,0 ml di questa soluzione a 50,0 ml con *acqua R*. Ad 1,0 ml di questa diluizione aggiungere 10,0 ml di *lantanio cloruro soluzione R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. All'interno di quattro identici palloni per volumetria contenenti ognuno 10 ml di *lantanio cloruro soluzione R*, introdurre 1,0 ml, 2,0 ml, 4,0 ml e 5,0 ml, rispettivamente, di *soluzione standard di sodio (Na 10 ppm) R* e diluire a 100,0 ml con *acqua R*.

Lunghezza d'onda: 589,0 nm.

Potassio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di potassio (K) indicato in etichetta.

Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Diluire con *acqua R* una quantità accuratamente pesata della preparazione in esame fino a una concentrazione appropriata per lo strumento da usare. A 100 ml della soluzione aggiungere 10 ml di una soluzione (22 g/l) di *sodio cloruro R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*. A 100 ml di ciascuna soluzione di riferimento aggiungere 10 ml di una soluzione (22 g/l) di *sodio cloruro R*.

Sorgente di radiazione: lampada a catodo cavo al potassio.

Lunghezza d'onda: 766,5 nm.

Dispositivo di atomizzazione: una fiamma aria-acetilene.

Calcio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di calcio (Ca) indicato in etichetta.

Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Prelevare 5,0 ml della soluzione da esaminare e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. A 3,0 ml di questa soluzione aggiungere 5 ml di *lantanio cloruro soluzione R* e diluire a 50,0 ml con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. A quattro identici palloni tarati per volumetria contenenti ognuno 5 ml di *lantanio cloruro soluzione R* aggiungere, rispettivamente, 2,5 ml, 5,0 ml, 7,0 ml e 10,0 ml di *soluzione standard di calcio (Ca 10 ppm) R* e diluire a 50,0 ml con *acqua R*.

Sorgente di radiazione: lampada a catodo cavo al calcio.

Lunghezza d'onda: 422,7 nm.

Dispositivo di atomizzazione: una fiamma aria-acetilene.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al calcio come sorgente di radiazione ed una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Magnesio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di magnesio (Mg) indicato in etichetta.

Determinare mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I, 2.2.23*).

Soluzione in esame. Prelevare 5,0 ml della soluzione da esaminare e diluire a 100,0 ml con *acqua R*. A 2,0 ml di questa soluzione aggiungere 5 ml di *lantanio cloruro soluzione R* e diluire a 50,0 ml con *acqua R*.

Soluzioni di riferimento. A quattro identici palloni tarati per volumetria contenenti ognuno 5,0 ml di *lantanio cloruro soluzione R* aggiungere, rispettivamente, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml e 4,0 ml di *soluzione standard di magnesio (Mg 10,0 ppm) R* e diluire a 50,0 ml con *acqua R*.

Sorgente di radiazione: lampada a catodo cavo al magnesio.

Lunghezza d'onda: 485,2 nm.

Dispositivo di atomizzazione: una fiamma aria-acetilene.

Cloruri totali. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di cloruri (Cl) indicato in etichetta.

Diluire a 50 ml con *acqua R* un volume accuratamente misurato della preparazione in esame contenente l'equivalente di circa 60 mg di ione cloruro. Aggiungere 5 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *dibutile ftalato R*. Agitare. Usando 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore, titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* fino al viraggio ad una colorazione giallo-rossastra.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Acetato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di acetato indicato in etichetta.

A un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di acetato.

Lattato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di lattato indicato in etichetta.

A un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di lattato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Aggiungere successivamente 50 ml di *acetoneitrile R*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di lattato.

Sodio bicarbonato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di sodio bicarbonato indicato in etichetta.

Titolare con *acido cloridrico 0,1 M* un volume della preparazione in esame corrispondente a circa 0,1 g di sodio bicarbonato, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 8,40 mg di NaHCO_3 .

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di glucosio indicato in etichetta.

Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml con tappo a smeriglio e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare ad un refrigerante a ricadere, scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolti in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espressi come glucosio anidro ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), utilizzando la Tabella 0128-4.

Tabella 0128.-4.

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura non inferiore a 4 °C.

ETICHETTE

L'etichetta della soluzione concentrata indica:

- la composizione della soluzione espressa in grammi per litro ed in millimoli per litro,
- il volume nominale della soluzione nel recipiente,
- se del caso, che la soluzione concentrata è sterile,
- le condizioni di conservazione,
- che la soluzione concentrata deve essere diluita immediatamente prima dell'uso,
- la diluizione da effettuare,
- che il volume prelevato per l'uso deve essere misurato accuratamente,
- la composizione ionica per la soluzione diluita pronta per l'uso in millimoli per litro,
- che le eventuali porzioni di soluzione non utilizzate devono essere scartate,
- se del caso, che il sodio bicarbonato deve essere aggiunto prima dell'uso.

0861

SOLUZIONI PER EMOFILTRAZIONE E PER EMODIAFILTRAZIONE

Solutions ad haemocolaturam
haemodiacolaturamque

DEFINIZIONE

Le soluzioni per emofiltrazione e per emodiafiltrazione sono preparazioni per uso parenterale contenenti elettroliti in concentrazione molto simile alla composizione elettrolitica del plasma. Il glucosio può essere incluso nella formulazione.

Le soluzioni per emofiltrazione e per emodiafiltrazione sono fornite in:

- recipienti rigidi o semirigidi di plastica,
- recipienti flessibili di plastica dentro involucri protettivi sigillati,
- recipienti di vetro.

I recipienti e le chiusure soddisfano ai requisiti per i recipienti per le preparazioni ad uso parenterale (3.2. *Contenitori*).

In emofiltrazione ed in emodiafiltrazione si utilizzano le seguenti formulazioni. Le concentrazioni dei componenti per litro di soluzione sono comprese generalmente nei seguenti intervalli:

Soluzioni per emofiltrazione e per emodiafiltrazione

Tabella 0861.-1.

	Espressione in mmol	Espressione in mEq
Sodio	125 – 150	125 – 150
Potassio	0 – 4,5	0 – 4,5
Calcio	1,0 – 2,5	2,0 – 5,0
Magnesio	0,25 – 1,5	0,50 – 3,0
Acetato e/o lattato e/o bicarbonato	30 – 60	30 – 60
Cloruri	90 – 120	90 – 120
Glucosio	0 – 25	

Se è presente bicarbonato, la soluzione di sodio bicarbonato è fornita in un contenitore o in un compartimento separato ed è aggiunta alla soluzione di elettroliti immediatamente prima dell'uso.

In emofiltrazione ed in emodiafiltrazione si utilizzano anche le seguenti formulazioni:

Tabella 0861.-2.

	Espressione in mmol	Espressione in mEq
Sodio	130 – 167	130 – 167
Potassio	0 – 4,0	0 – 4,0
Bicarbonato	20 – 167	20 – 167
Cloruri	0 – 147	0 – 147

Antiossidanti come il metabisolfito non sono aggiunti alle soluzioni.

IDENTIFICAZIONE

In relazione alla composizione dichiarata la preparazione in esame dà le seguenti reazioni di identificazione (2.3.1):

- potassio: reazione (b),
- calcio: reazione (a),
- sodio: reazione (b),
- cloruri: reazione (a),
- acetati:
se la preparazione non contiene glucosio, effettuare la reazione (b),
se la preparazione in esame contiene glucosio, usare il seguente metodo: a 5 ml della preparazione in esame in una provetta provvista di un tappo e di un tubo a gomito, aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R*, scaldare e raccogliere alcuni millilitri del distillato; effettuare la reazione (b) degli acetati sul distillato,
- lattati,
- carbonati e bicarbonati,

- magnesio: a 0,1 ml di *giallo titanio soluzione R* aggiungere 10 ml di *acqua R*, 2 ml della preparazione in esame e 1 ml di *sodio idrossido 1 M*; appare una colorazione rosa,
- glucosio: a 5 ml della preparazione in esame aggiungere 2 ml di *sodio idrossido soluzione diluita R* e 0,05 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R*; la soluzione è blu e limpida; scaldare all'ebollizione; si forma un abbondante precipitato rosso.

SAGGI

Aspetto della soluzione. La preparazione in esame è limpida (2.2.1). Se non contiene glucosio è incolore (Metodo I, 2.2.2). Se contiene glucosio, non è più intensamente colorata della soluzione di riferimento G₇ (Metodo I, 2.2.2).

pH (2.2.3). Il pH della preparazione in esame è compreso tra 5,0 e 7,5. Se la preparazione contiene glucosio il pH è compreso tra 4,5 e 6,5. Se la soluzione contiene bicarbonato, il pH è compreso tra 7,0 e 8,5.

Idrossimetilfurfurale. Ad un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio, aggiungere 5,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *p-toluidina R* in *2-propanolo R* contenente il 10 per cento V/V di *acido acetico glaciale R* e 1,0 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido barbiturico R*. L'assorbanza (2.2.25) determinata a 550 nm dopo aver lasciato riposare la miscela per 2-3 min, non è maggiore di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo utilizzando una soluzione contenente 10 µg di *idrossimetilfurfurale R* in un volume identico a quello della soluzione in esame. Se la soluzione contiene bicarbonato, usare come standard una soluzione contenente 20 µg di *idrossimetilfurfurale R*.

Alluminio (2.4.17). Prelevare 200 ml della preparazione in esame, portare il pH a 6,0 ed aggiungere 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R*. La soluzione sod-disfa al saggio limite per l'alluminio (10 µg/l). Usare come soluzione di riferimento una miscela di 1 ml della *soluzione standard di alluminio (Al 2 ppm) R*, 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 9 ml di *acqua R*. Per preparare il bianco usare una miscela di 10 ml di *tampone acetato soluzione a pH 6,0 R* e 10 ml di *acqua R*.

Contaminazione particellare. Effettuare il saggio per le particelle non visibili (2.9.19) utilizzando 50 ml di preparazione.

Tabella 0861.-3.

Particelle con dimensioni superiori a	10 µm	25 µm
Numero massimo di particelle per millilitro	25	3

Volume estraibile (2.9.17). La preparazione in esame soddisfa al saggio descritto per le infusioni parenterali.

Sterilità (2.6.1). La preparazione in esame soddisfa al saggio di sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Meno di 0,25 U.I. di endotossine per millilitro.

Pirogeni (2.6.8). Le preparazioni per le quali non può essere effettuato un saggio convalidato per le endotossine batteriche soddisfano al saggio dei pirogeni. Iniettare 10 ml della preparazione in esame per ogni chilogrammo di massa del coniglio.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Sodio. Dal 97,5 per cento al 102,5 per cento del contenuto di sodio (Na) indicato in etichetta, determinato per spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo II*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Se necessario diluire la preparazione in esame con *acqua R* ad una concentrazione appropriata per lo strumento da usare.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di sodio (Na 200 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 589,0 nm utilizzando una lampada a catodo cavo al sodio come sorgente di radiazione e una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Potassio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di potassio (K) indicato in etichetta, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Se necessario diluire la preparazione in esame con *acqua R* ad una concentrazione appropriata per lo strumento da usare. A 100 ml della preparazione aggiungere 10 ml di una soluzione (22 g/l) di *sodio cloruro R*.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di potassio (K 100 ppm) R*. A 100 ml di ciascuna soluzione di riferimento aggiungere 10 ml di una soluzione (22 g/l) di *sodio cloruro R*.

Misurare l'assorbanza a 766,5 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al potassio come sorgente di radiazione ed una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Calcio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di calcio (Ca) indicato in etichetta, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Se necessario diluire la preparazione in esame con *acqua R* ad una concentrazione appropriata per lo strumento da usare.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di calcio (Ca 400 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 422,7 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al calcio come sorgente di radiazione ed una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Magnesio. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di magnesio (Mg) indicato in etichetta, determinato mediante spettrometria di assorbimento atomico (*Metodo I*, 2.2.23).

Soluzione in esame. Se necessario, diluire con *acqua R* la preparazione in esame fino a una concentrazione appropriata per lo strumento da usare.

Soluzioni di riferimento. Preparare le soluzioni di riferimento utilizzando la *soluzione standard di magnesio (Mg 100 ppm) R*.

Misurare l'assorbanza a 285,2 nm, utilizzando una lampada a catodo cavo al magnesio come sorgente di radiazione ed una fiamma aria-acetilene o aria-propano.

Cloruri totali. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di cloruri (Cl) indicato in etichetta. Diluire a 50 ml con *acqua R* un volume accuratamente misurato della preparazione in esame contenente l'equivalente di circa 60 mg di ione cloruro. Aggiungere 5 ml di *acido nitrico diluito R*, 25,0 ml di *argento nitrato 0,1 M* e 2 ml di *dibutile ftalato R*. Agitare. Usando 2 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione R2* come indicatore, titolare con *ammonio tiocianato 0,1 M* fino al viraggio ad una colorazione giallo-rossastra.

1 ml di *argento nitrato 0,1 M* equivale a 3,545 mg di Cl.

Acetato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di acetato indicato in etichetta. A un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di acetato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di acetato.

Lattato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di lattato indicato in etichetta. A un volume della preparazione in esame, corrispondente a circa 0,7 mmol di lattato, aggiungere 10,0 ml di *acido cloridrico 0,1 M*. Aggiungere successivamente 50 ml di *acetone nitrile R*.

Soluzioni per emofiltrazione e per emodiafiltrazione

Effettuare una titolazione potenziometrica (2.2.20), utilizzando *sodio idrossido 0,1 M*. Leggere il volume aggiunto tra i due punti di flesso.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 0,1 mmol di lattato.

Sodio bicarbonato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di sodio bicarbonato indicato in etichetta. Titolare con *acido cloridrico 0,1 M*, un volume della soluzione in esame corrispondente a circa 0,1 g di sodio bicarbonato, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 8,40 mg di NaHCO_3 .

Lattato e bicarbonato. Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di lattati e/o bicarbonati indicato in etichetta. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Soluzione da esaminare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere in 100 ml di *acqua per cromatografia R* quantità di lattati e bicarbonati, accuratamente pesate, tali da ottenere soluzioni aventi concentrazioni rappresentanti circa il 90 per cento, il 100 per cento e il 110 per cento delle concentrazioni indicate in etichetta.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito utilizzando:

- una colonna lunga 0,30 m e con diametro interno di 7,8 mm impaccata con *resina a scambio cationico R* (9 μm),
- *acido solforico 0,005 M*, previamente degassato con *elio R*, come fase mobile ad una velocità di flusso di 0,6 ml/min,
- come rivelatore un rifrattometro differenziale.

Mantenere la temperatura della colonna a 85 °C.

Iniettare in duplicato 20 μl della soluzione in esame e 20 μl di ciascuna soluzione di riferimento. Se i cromatogrammi sono registrati nelle condizioni prescritte, i picchi sono eluiti nel seguente ordine: lattati poi bicarbonati.

Determinare la concentrazione dei lattati e dei bicarbonati nella soluzione in esame interpolando l'area del picco del lattato e l'altezza del picco del bicarbonato dalla regressione lineare della curva ottenuta con le soluzioni di riferimento.

Zuccheri riducenti (espressi come glucosio anidro). Dal 95,0 per cento al 105,0 per cento del contenuto di glucosio indicato in etichetta. Trasferire un volume della preparazione in esame contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio in una beuta da 250 ml e aggiungere 25,0 ml di *cupri-citrica soluzione R*. Aggiungere qualche granello di pomice, fissare a un refrigerante a ricadere,

scaldare in modo che l'ebollizione avvenga entro 2 min e mantenere l'ebollizione per 10 min esatti. Raffreddare ed aggiungere 3 g di *potassio ioduro R* disciolto in 3 ml di *acqua R*. Aggiungere cautamente, in piccole quantità, 25 ml di una soluzione al 25 per cento *m/m* di *acido solforico R*. Titolare con *sodio tiosolfato 0,1 M* usando come indicatore *amido soluzione R*, aggiunto verso la fine della titolazione. Effettuare una titolazione in bianco usando 25,0 ml di *acqua R*.

Calcolare il contenuto di zuccheri riducenti, espresso come glucosio anidro ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), usando la tabella 0861-4.

Tabella 0861.-4.

Volume di <i>sodio tiosolfato 0,1 M</i> (millilitri)	Glucosio anidro (milligrammi)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura non inferiore a 4 °C.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- la composizione della soluzione per emofiltrazione o emodiafiltrazione espressa in grammi per litro ed in millimoli per litro,
- l'osmolarità calcolata espressa in milliosmoli per litro,
- il volume nominale della soluzione per emofiltrazione o emodiafiltrazione nel recipiente,
- che la soluzione è esente da endotossine batteriche, o se del caso, che è apirogena,
- le condizioni di conservazione,
- che ogni porzione inutilizzata della soluzione deve essere scartata.

SOLUZIONI PER LA CONSERVAZIONE DEGLI ORGANI

Solutiones ad conservationem partium corporis

DEFINIZIONE

Le soluzioni per la conservazione degli organi sono preparazioni acquose, sterili, usate per la conservazione, la protezione e/o la perfusione di organi del corpo umano che sono destinati in particolare per i trapianti.

Le soluzioni contengono elettroliti che sono tipicamente ad una concentrazione vicina alla composizione elettrolitica intracellulare.

Possono contenere carboidrati (come il glucosio o il mannitolo), amminoacidi, agenti complessanti il calcio (come il citrato o il fosfato), idrocolloidi (come l'amido o i derivati della gelatina) e altri eccipienti, per esempio per rendere la preparazione isotonica con il sangue, per correggere o tamponare il pH, per prevenire il deterioramento degli ingredienti, ma non devono ostacolare l'azione prevista dalla preparazione o, alla concentrazione usata, causare tossicità o indurre irritazioni locali. Le soluzioni per la conservazione degli organi possono contenere anche sostanze attive o queste possono essere aggiunte immediatamente prima dell'uso.

Le soluzioni per la conservazione degli organi, esaminate in condizioni adatte di visibilità, sono limpide e praticamente esenti da particelle.

Le soluzioni per la conservazione degli organi possono essere formulate anche come soluzioni concentrate. Queste sono diluite al volume previsto con un liquido prescritto immediatamente prima dell'uso. Dopo la diluizione, esse soddisfano ai requisiti per le soluzioni per la conservazione degli organi.

Prima dell'uso, le soluzioni per la conservazione degli organi sono raffreddate a bassa temperatura, normalmente tra 2 °C e 6 °C, per ridurre la temperatura dell'organo umano e il suo metabolismo.

Se del caso, i contenitori per le soluzioni per la conservazione degli organi soddisfano ai requisiti per i *Materiali usati nella fabbricazione di contenitori* (3.1. e sue sezioni) e *Contenitori* (3.2. e sue sezioni). Le soluzioni per la conservazione degli organi sono fornite in contenitori di vetro (3.2.1) o in contenitori di plastica (3.2.2. e 3.2.8). L'ermeticità del contenitore è assicurata da idonei sistemi. Le chiusure garantiscono una buona sigillatura, che impedisce l'ingresso di microrganismi e di altri contaminanti e usualmente permettono di prelevare una parte o la totalità dei contenuti senza rimo-

zione della stessa. I materiali plastici o elastomeri di cui sono composte le chiusure sono sufficientemente stabili ed elastici per permettere il passaggio di un ago con la minima possibilità di formazione di particelle.

PRODUZIONE

Le soluzioni per la conservazione degli organi sono preparate usando materiali e metodi idonei ad assicurare la loro sterilità e ad evitare l'introduzione di contaminanti e la crescita di microrganismi; sono previste delle raccomandazioni su questo aspetto nel capitolo *Metodi di preparazione di prodotti sterili* (5.1.1).

Se non diversamente indicato e autorizzato, le soluzioni per la conservazione degli organi sono preparate a partire dall'*acqua per preparazioni iniettabili R* e non contengono conservanti antimicrobici.

SAGGI

pH (2.2.3). *Effettuare il saggio a temperatura ambiente.* Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 8,0.

Osmolalità (2.2.35). L'osmolalità della soluzione è compresa tra 250 mosmol/kg e 380 mosmol/kg.

Idrossimetilfurfurale. Se la soluzione contiene glucosio, soddisfa al saggio seguente: ad un volume della preparazione da esaminare contenente l'equivalente di 25 mg di glucosio, aggiungere 5,0 ml di una soluzione (100 g/l) di *p-toluidina R* in *2-propanolo R* contenente il 10 per cento V/V di *acido acetico glaciale R* e 1,0 ml di una soluzione (5 g/l) di *acido barbiturico R*. L'assorbanza (2.2.25), determinata a 550 nm dopo aver lasciato a riposo la miscela per 2-3 min, non è maggiore di quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente nello stesso modo usando una soluzione contenente 10 µg di *idrossimetilfurfurale R* nello stesso volume della preparazione in esame.

Contaminazione particellare. Effettuare il saggio per le particelle non visibili (2.9.19) usando 50 ml della preparazione in esame. La soluzione contiene non più di 50 particelle per millilitro con dimensioni superiori a 10 µm e non più di 5 particelle per millilitro con dimensioni superiori a 25 µm.

I prodotti per i quali l'etichetta indica che il prodotto deve essere usato con un filtro finale sono esonerati da questi requisiti.

Sterilità (2.6.1). La soluzione soddisfa al saggio per la sterilità.

Endotossine batteriche (2.6.14). Meno di 0,5 U.I. di endotossine per millilitro.

Streptomicina preparazione iniettabile

Pirogeni (2.6.8). Le soluzioni per le quali non può essere effettuato un saggio convalidato per le endotossine batteriche soddisfano al saggio dei pirogeni. Se non diversamente indicato e autorizzato iniettare, per chilogrammo di massa corporea dell'animale, 10 ml della soluzione in esame.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- che la soluzione non deve essere usata per iniezione,
- la formula della soluzione per la conservazione degli organi espressa in grammi per litro e in millimoli per litro,
- il volume nominale della soluzione per la conservazione degli organi nel contenitore,
- l'osmolalità, espressa in milliosmoli per chilogrammo,
- che ciascuna porzione inutilizzata della soluzione pronta per l'uso, della soluzione concentrata o della soluzione diluita deve essere scartata,
- le condizioni di conservazione,
- se del caso, che la soluzione deve essere usata in congiunzione con un filtro finale.

Inoltre, per le soluzioni concentrate l'etichetta indica:

- che la soluzione deve essere diluita con un liquido adatto immediatamente prima dell'uso.

STREPTOMICINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Streptomicina solfato polvere sterile
per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di streptomicina solfato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di streptomicina solfato è una soluzione sterile di *Streptomicina solfato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

La preparazione iniettabile si prepara immediatamente prima dell'uso disciogliendo la polvere sterile di streptomicina solfato nel prescritto volume di solvente.

Streptomicina solfato per preparazioni iniettabili

La streptomicina solfato per preparazioni iniettabili soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La streptomicina solfato per preparazioni iniettabili è costituita da *Streptomicina solfato* polvere sterile.

Contenuto di streptomicina ($C_{21}H_{39}N_7O_{12}$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità di streptomicina indicata in etichetta.

La polvere può contenere un adatto agente tampone.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando lastre ricoperte con una strato dello spessore di 0,75 mm di una miscela preparata come segue: 0,3 g di *carbomero R* vengono sospesi e lasciati a riposo in 240 ml di *acqua R* per circa 1 h. Il pH viene quindi portato a 7,0 mediante graduale aggiunta, sotto costante agitazione, di *sodio idrossido 2 M*. Aggiungere quindi 30 g di *gel di silice H*.

Attivare le lastre per 1 h a 110 °C, lasciarle raffreddare e usare immediatamente.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 10 mg di streptomicina solfato con *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 10 mg di *streptomicina solfato SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *streptomicina solfato SCR*, 10 mg di *neomicina SCR* e 10 mg di *kanamicina monosolfato SCR* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso pari a 15 cm usando una soluzione (70 g/l) di *potassio fosfato monobasico R*. Asciugare la lastra all'aria e seccarla con un getto di aria tiepida. Spruzzare la lastra con una miscela in eguali volumi di una soluzione (2 g/l) di *1,3-diidrossinaftalene R* in *alcol R* e di una soluzione (460 g/l) di *acido solforico R*. Scaldare per 10 minuti a 150 °C.

La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) mostra tre macchie chiaramente separate.

- B. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 5 mg di streptomicina solfato in 5 ml di *acqua R*, aggiungere 1 ml di *idrossido di sodio 1 M* e scaldare in un bagno ad acqua per 4 minuti. Aggiungere un piccolo eccesso di *acido cloridrico diluito R* e 0,1 ml di *ferro(-ico) cloruro soluzione R1*. Si sviluppa una colorazione violetta.
- C. Dà la reazione caratteristica dei solfati (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.23). Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 2,5 g di streptomicina in 10 ml di *acqua R*. Il pH della soluzione è compreso tra 4,5 - 7,0.

Streptomicina B

Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice G per cromatografia su strato sottile R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 160,0 mg di streptomicina in 5,0 ml di una miscela, preparata immediatamente prima dell'uso, di 3 volumi di *acido solforico R* e di 97 volumi di *metanolo R*, scaldare a ricadere per 1 ora, raffreddare, lavare accuratamente con *metanolo R* e diluire a 20,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 36,0 mg di *D-mannosio R* in una miscela, preparata immediatamente prima dell'uso, di 3 volumi di *acido solforico R* e 97 volumi di *metanolo R* e diluire a 5,0 ml, scaldare a ricadere per 1 h, raffreddare, lavare accuratamente con *metanolo R* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente; diluire 5,0 ml a 50,0 ml con *metanolo R*. Questa soluzione contiene l'equivalente dello 0,03 per cento (*m/V*) di streptomicina B (1 mg di *D-mannosio R* è equivalente a 4,13 mg di streptomicina B).

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso paria a circa 2/3 della lastra usando una soluzione di 25 volumi di *acido glaciali R*, 25 volumi di *metanolo R* e 50 volumi di *toluene R*. Asciugare la lastra all'aria e spruzzare con una miscela in eguali volumi di una soluzione (2 g/l) di *1,3-diidrossinaftalene R* in *alcool R* e di una soluzione (460 g/l) di *acido solforico R*. Scaldare per 5 minuti a 110 °C. La macchia corrispondente alla streptomicina

na B nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame non è superiore alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (3,0 per cento).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 7,0 per cento, determinata su una quantità di preparazione equivalente a 1,000 g, per essiccamento a 60 °C su *anidride fosforica R* ad una pressione non superiore a 0,1 kPa per 24 ore.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,25 U.I. di endotossine per mg di streptomicina solfato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei contenitori come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Disciogliere, con l'aiuto di un bagno ad ultrasuoni, una quantità di polvere, ottenuta miscelando il contenuto dei 10 flaconi, equivalente a 33 mg di streptomicina con *acqua per preparazioni iniettabili R* e diluire a 100,0 ml. Effettuare il dosaggio microbiologico per gli antibiotici (2.7.2).

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di streptomicina solfato espresso in termini di streptomicina.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere Streptomicina solfato polvere sterile corrispondente a 1 g di streptomicina; le fiale di solvente contengono 3 ml o i volumi previsti di Acqua per preparazione iniettabile.

SULFACETAMIDE COLLIRIO SOLUZIONE

Sulfacetamide sodica soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di sulfacetamide soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di sulfacetamide è una soluzione sterile di *Sulfacetamide sodica* e adeguati eccipienti in *Acqua depurata sterile*.

Sulfacetamide preparazione oftalmica semisolida

La soluzione contiene un antibatterico e un antiossidante.

Contenuto di sulfacetamide sodica ($C_8H_9N_2NaO_3S \cdot H_2O$): non meno del 92,5 per cento e non più del 107,5 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o leggermente gialla.

IDENTIFICAZIONE

- A. Diluire un volume di preparazione in esame, corrispondente a 100 mg circa di sulfacetamide sodica, a 10 ml con *acqua R*. Aggiungere 10 ml circa di *acido acetico diluito R*, mescolare e filtrare. Il precipitato, lavato con *acqua R* e seccato in stufa a 100-105 °C per 4 h, fonde (2.2.14) tra 181 °C e 185 °C.
- B. Disciogliere, scaldando, 1 mg del precipitato ottenuto nella reazione di identificazione A in 1 ml di *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica della ammine primarie aromatiche (2.3.1) con formazione di un precipitato rosso-arancio.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 6,8 e 7,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice HF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. La preparazione in esame.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 5 mg di *sulfanilammide R* in *acqua R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 5 ml della soluzione di riferimento (a) a 10 ml con *acqua R*.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 5 mg di *sulfanilammide R*, in 10 ml della soluzione in esame.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando come fase mobile una miscela di 10 volumi di *ammoniaca R*, 25 volumi di *acqua R*, 25 volumi di *alcool R* e 50 volumi di *butanolo R*. Lasciar asciugare la lastra all'aria e spruzzare con *dimetilamminobenzaldeide soluzione R2*. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame nessuna macchia, ad eccezione della macchia principale, è più intensa di quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a) e non più

di una macchia è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b). Il saggio è valido se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (c) presenta due macchie nettamente separate.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a 0,500 g di sulfacetamide sodica, aggiungere 50 ml di *acqua R* e 20 ml di *acido cloridrico diluito R*. Titolare con *sodio nitrito 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione. Effettuare la titolazione a 15 °C, sotto leggera agitazione per evitare l'ossidazione del titolante, effettuando aggiunte non superiori a 0,1 ml in prossimità del punto finale e lasciando intercorrere non meno di 1 min tra una aggiunta e l'altra.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 25,42 mg di $C_8H_9N_2NaO_3S \cdot H_2O$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Il collirio contiene il 10 per cento m/V di sulfacetamide sodica.

SULFACETAMIDE PREPARAZIONE OFTALMICA SEMISOLIDA

Sulfacetamide sodica pomata oftalmica

La preparazione oftalmica semisolida di sulfacetamide soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

La preparazione oftalmica semisolida di sulfacetamide ha la seguente composizione:

<i>Sulfacetamide sodica</i>	100 g
<i>Paraffina liquida</i>	90 g
<i>Vaselina bianca</i>	810 g

Preparazione: disperdere con tecnica aseptica la *Sulfacetamide sodica*, opportunamente micronizzata e sterilizzata, nella *Paraffina liquida* previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h. Aggiungere quindi, sotto agitazione,

la *Vaselina bianca* fusa, previamente sterilizzata a 150 °C per 1 h, mescolare fino a completa solidificazione ed omogenizzazione.

Contenuto di sulfacetamide sodica ($C_8H_9N_2NaO_3S \cdot H_2O$): non meno del 92,5 per cento e non più del 107,5 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Dispersione di consistenza pastosa, filante, omogenea

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 0,500 g di sulfacetamide sodica, aggiungere 50 ml di *etere R*, agitare ed estrarre con 20 ml di *acqua R*. Lavare l'estratto acquoso con 20 ml di *etere R* e scaldare a b.m. fino ad eliminare l'etere. Aggiungere 10 ml di *acido acetico diluito R*, filtrare, lavare il precipitato con *acqua R* e seccare in stufa a 100-105 °C per 2 h. Il residuo dà le seguenti reazioni di identificazione:

- A. Il residuo fonde (2.2.14) tra 181 °C e 185 °C.
- B. Disciogliere, scaldando, 1 mg di precipitato in 1 ml di *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica della ammine primarie aromatiche (2.3.1) con formazione di un precipitato rosso-arancio.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Ad una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a circa 0,500 g di sulfacetamide sodica, aggiungere 50 ml di *etere R*, agitare ed estrarre la miscela con 5 porzioni successive da 25 ml ciascuna di *acqua R*. Riunire gli estratti eteri, scaldare a b.m. per eliminare l'etere e aggiungere 20 ml di *acido cloridrico diluito R*. Titolare con *sodio nitrito 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione. Effettuare la titolazione a 15 °C, sotto leggera agitazione per evitare l'ossidazione del titolante, effettuando aggiunte non superiori a 0,1 ml in prossimità del punto finale e lasciando intercorrere non meno di 1 min tra una aggiunta e l'altra.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 25,42 mg di $C_8H_9N_2NaO_3S \cdot H_2O$.

CONSERVAZIONE

In adatti recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce e dal calore.

SULFADIAZINA COMPRESSE

Le compresse di sulfadiazina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di sulfadiazina contengono *Sulfadiazina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di sulfadiazina ($C_{10}H_{10}O_2N_4S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Estrarre una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di sulfadiazina, con due porzioni successive, ciascuna da 5 ml, di *cloroformio R*. Filtrare ed evaporare a secco il filtrato a pressione ridotta. Trattare il residuo con 10 ml di *ammoniaca diluita R1* per 5 min, aggiungere 10 ml di *acqua R* e filtrare. Scaldare fino ad eliminare completamente l'ammoniaca, raffreddare e acidificare con *acido acetico R*. Lavare il precipitato formatosi con *acqua R* ed essiccarlo in stufa a 100-105 °C. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- A. Il residuo fonde (2.2.14) a 255 °C con decomposizione.
- B. Il residuo dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare a lungo una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 500 mg circa di sulfadiazina, con 50 ml di *acido cloridrico diluito R* e 3 g di *potassio bromuro R*. Scaldare, se necessario, e raffreddare. Titolare lentamente con *sodio nitrito 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 25,03 mg di $C_{10}H_{10}O_2N_4S$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di sulfadiazina.

SULFADIAZINA CONCENTRATO STERILE

Sulfadiazina sodica fiale da diluire

Il concentrato sterile di sulfadiazina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il concentrato sterile di sulfadiazina è una soluzione ipertonica, sterile ed apirogena in *Acqua per preparazioni iniettabili* di sulfadiazina sodica preparata da *Sulfadiazina* e *Sodio idrossido* in quantità equivalenti.

Contenuto di sulfadiazina ($C_{10}H_{10}N_4O_2S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, incolore o leggermente paglierina.

IDENTIFICAZIONE

Acidificare 5 ml con *acido acetico diluito R*. Si forma un precipitato bianco che, raccolto su filtro, lavato con *acqua R* ed essiccato a 105 °C per 1 h, soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Punto di fusione (2.2.14): 255 °C circa, con decomposizione.
- Dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).
- Trasferire 1 g circa in un tubo da saggio asciutto e scaldare fino a formazione di un sublimato. In un tubo da saggio mescolare pochi milligrammi del sublimato con 1 ml di una soluzione (50 g/l) di *resorcina R* in *alcool R*; aggiungere 1 ml di *acido solforico R* e agitare; si sviluppa immediatamente una colorazione rossa scura.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 9,0 e 11,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 25 U.I. di endotossine per millilitro.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Prelevare 2 ml di preparazione in esame, corrispondenti a circa 500 mg di sulfadiazina sodica, ed eseguire la determinazione dell'azoto amminico primario (2.5.4).

Titolare lentamente con *sodio nitrito 0,1 M* determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 25,03 mg di $C_{10}H_{10}N_4O_2S$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- soluzione ipertonica endovenosa da usare dopo opportuna diluizione, con precauzione e a velocità controllata.

Il concentrato sterile, distribuito in fiale da 1 ml, contiene il 25,0 per cento m/V di sulfadiazina sodica.

SULFADIMETOXINA COMPRESSE

Le compresse di sulfadimetoxina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di sulfadimetoxina contengono *Sulfadimetoxina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di sulfadimetoxina ($C_{12}H_{14}N_4O_4S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- Polverizzare finemente alcune compresse. Disperdere una quantità di polvere, corrispondente a circa 1 g di sulfadimetoxina, in 5 ml di *acido cloridrico diluito R* e 10 ml di *acqua R*. Filtrare ed aggiungere al filtrato, goccia a goccia, *sodio idrossido soluzione diluita R* fino alla formazione e successiva dissoluzione di un precipitato. In seguito aggiungere, goccia a goccia, *acido cloridrico R* fino alla formazione di un precipitato che viene raccolto su filtro e lavato con *acqua R*. Il residuo, essiccato in stufa a 100-105 °C, fonde (2.2.14) da 198 °C a 203 °C.
- Il residuo ottenuto nella reazione di identificazione A dà le reazioni di identificazione delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

SAGGI

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare per 5 min una quantità di polvere, corrispondente a 250 mg di sulfadimetoxina, con 20 ml di una miscela formata da 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*. Filtrare e diluire il filtrato a 100 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento. Soluzione (0,0125 g/l) di *sulfanilammide R* in una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm con una miscela di 20 volumi di *cloroformio R*, 2 volumi di *metanolo R* e 1 volume di *dimetilformammide R*. Lasciar seccare la lastra all'aria per alcuni minuti e spruzzare con una soluzione di *acido solforico R* al 10 per cento V/V in *alcool R*. Seccare a 105 °C per 30 min ed esporre la lastra in una vasca chiusa per 15 min ai vapori nitrosi ottenuti aggiungendo una goccia di *acido solforico R* ad una soluzione contenente 100 g/l di *sodio nitrito R* e 30 g/l di *potassio ioduro R*. Esporre la lastra ad una corrente d'aria per 15 min e spruzzare con una soluzione (5 g/l) di *naftiletildiammina dicloridrato R* in *alcool R*. Se necessario ripetere l'operazione una seconda volta dopo aver asciugato la lastra. Nel cromatogramma, ottenuto con la soluzione in esame, nessuna macchia oltre alla principale, è più intensa della macchia nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare a lungo una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 500 mg circa di sulfadimetoxina, con una miscela di 75 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R*. Scaldare, se necessario, e raffreddare. Titolare lentamente con *sodio nitrito 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto fine titolazione.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 31,02 mg di $C_{12}H_{14}N_4O_4S$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di sulfadimetoxina.

SULFAMETOPIRAZINA COMPRESSE

Le compresse di sulfametopirazina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di sulfametopirazina contengono *Sulfametopirazina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di sulfametopirazina ($C_{11}H_{12}N_4O_3S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Disciogliere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 1 g di sulfametopirazina, in 5 ml di *acido cloridrico diluito R* e 10 ml di *acqua R*. Filtrare e al filtrato aggiungere, goccia a goccia, *sodio idrossido soluzione diluita R* fino alla formazione e successiva dissoluzione di un precipitato. Aggiungere, goccia a goccia, *acido cloridrico R* fino alla formazione di un precipitato che viene raccolto su filtro e lavato con *acqua R*. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione:

- Punto di fusione (2.2.14): da 175 °C a 178 °C.
- Disciogliere 0,1 g in 10 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e aggiungere 2-3 gocce di *potassio permanganato 0,02 M*. Si sviluppa un'intensa colorazione verde.
- Disciogliere circa 5 mg in 10 ml di *acido cloridrico 1 M*. Diluire 1 ml della soluzione a 10 ml con *acqua R*. La soluzione, senza ulteriore acidificazione, dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare a lungo una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 500 mg circa di sulfametopirazina, con una miscela di 75 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R*. Scaldare, se necessario, e raffreddare. Titolare lentamente con *sodio nitrito 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 28,02 mg di $C_{11}H_{12}N_4O_3S$.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di sulfametopirazina.

SULFAMETOPIRAZINA SCIROPPO

Lo sciroppo di sulfametopirazina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per uso orale (0672).

DEFINIZIONE

Lo sciroppo di sulfametopirazina contiene *Sulfametopirazina* in adeguati eccipienti.

Contenuto di sulfametopirazina ($C_{11}H_{12}N_4O_3S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione sciropposa omogenea, dopo agitazione, di colore tra il bianco e il bianco-giallastro.

IDENTIFICAZIONE

- Mescolare una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 100 mg circa di sulfametopirazina, con 10 ml di *sodio idrossido 0,1 M*. Aggiungere 2-3 gocce di *potassio permanganato 0,02 M*; si sviluppa una intensa colorazione verde.
- Dà la reazione caratteristica delle ammine primarie aromatiche (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della sospensione è compreso tra 4,0 e 4,5.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice H R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Agitare per 5 min una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 250 mg di sulfametopirazina, con 20 ml di una miscela formata da 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*, filtrare e diluire il filtrato a 100 ml con la stessa miscela di solventi.

Soluzione di riferimento. Preparare una soluzione (0,0125 g/l) di *sulfanilammide R* in una miscela di 9 volumi di *alcool R* e 1 volume di *ammoniaca R*.

Deporre separatamente sulla lastra 10 μ l di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando una miscela di 20 volumi di *cloroformio R*, 2 volumi di *metanolo R* e 1 volume di *dimetilformammide R*. Lasciar seccare la lastra all'aria e spruzzare con una soluzione (100 ml/l) di *acido solforico R* in *alcool R*. Seccare a 105 °C per 30 min ed esporre per 15 min, in una vasca

chiusa, ai vapori nitrosi ottenuti aggiungendo una goccia di *acido solforico R* contenente 100 g/l di *sodio nitrito R* e 30 g/l di *potassio ioduro R*. Esporre la lastra ad una corrente d'aria per 15 min e spruzzare con una soluzione (5 g/l) di *naftiletildiammina dicloridrato R* in *alcool R*; se necessario ripetere tale operazione una seconda volta, dopo aver asciugato la lastra. Nessuna macchia ad eccezione della macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è più intensa della macchia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Agitare una quantità di preparazione in esame, esattamente misurata e corrispondente a 500 mg circa di sulfametopirazina, con una miscela di 75 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico R*. Scaldare, se necessario, e raffreddare. Titolare lentamente con *sodio nitrito 0,1 M*, determinando potenziometricamente (2.2.20) il punto di fine titolazione.

1 ml di *sodio nitrito 0,1 M* equivale a 28,03 mg di $C_{11}H_{12}N_4O_3S$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Lo sciroppo contiene il 5 per cento m/V di sulfametopirazina.

TEOFILLINA-ETILENDIAMMINA COMPRESSE RIVESTITE

Aminofillina compresse rivestite

Le compresse rivestite di teofillina-etilendiammina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse* (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di teofillina-etilendiammina contengono *Teofillina-etilendiammina* o *Teofillina-etilendiammina idrata* in adeguati eccipienti.

Contenuto di teofillina ($C_7H_8N_4O_2$): non meno del 76,0 per cento e non più dell'86,0 per cento della quantità di teofillina-etilendiammina indicata in etichetta.

Contenuto di etilendiammina ($C_2H_8N_2$): non meno del 10,9 per cento della quantità di teofillina-etilendiammina indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzazione finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a 1,0 g di teofillina-etilendiammina, in 40 ml di *acqua R* e aggiungere 2 ml di *acido cloridrico diluito R* goccia a goccia e sotto agitazione. Filtrare e conservare il filtrato per la reazione di identificazione C. Lavare il residuo con piccole quantità di *acqua R* fredda e cristallizzarlo da *acqua R* bollente.

- A. Il precipitato, lavato con *acqua R* e seccato a temperatura compresa tra 100 °C e 105 °C, fonde (2.2.14) tra 270 °C e 274 °C.
- B. Disciogliere 10 mg circa del precipitato in 1 ml di *acido cloridrico R*, aggiungere 100 mg di *potassio clorato R* ed evaporare a secco. Il residuo di colore rossastro esposto ai vapori di *ammoniaca diluita R1* assume una colorazione porpora.
- C. Aggiungere al filtrato, ottenuto come descritto sopra, 0,2 ml di *benzoile cloruro R*, alcalinizzare la soluzione con *sodio idrossido soluzione diluita R* e agitare vigorosamente. Filtrare il precipitato, lavarlo con 10 ml di *acqua R*, discioglierlo in 5 ml di *alcool R* caldo e aggiungere 5 ml di *acqua R*. Si forma un precipitato che, lavato e seccato a 100-105 °C fonde (2.2.14) tra 248 °C e 252 °C.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente.

Teofillina. Aggiungere ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 80 mg di teofillina-etilendiammina, 20 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 60 ml di *acqua R*; dibattere per 10 min, diluire a 200 ml con *acqua R*, agitare e filtrare. Diluire 5,0 ml del filtrato a 250 ml con *sodio idrossido 0,01 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 275 nm circa, utilizzando *sodio idrossido 0,01 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_7H_8N_4O_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 650 nm.

Etilendiammina. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 300 mg di teofillina-etilendiammina, con 20 ml di *acqua R*, riscaldare

a 50 °C per 30 min e titolare con *acido solforico 0,05 M* usando come indicatore *verde bromocresolo soluzione R* fino ad ottenere una colorazione verde.

1 ml di *acido solforico 0,05 M* equivale a 3,005 mg di $C_2H_8N_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 200 mg di teofillina-etilendiammina.

TEOFILLINA-ETILENDIAMMINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Aminofillina fiale

La preparazione iniettabile di teofillina-etilendiammina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di teofillina-etilendiammina è una soluzione sterile ed apirogena di *Teofillina-etilendiammina* o *Teofillina-etilendiammina idrata* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Contenuto di teofillina ($C_7H_8N_4O_2$): non meno del 76,0 per cento e non più dell'86,0 per cento della quantità di teofillina-etilendiammina indicata in etichetta.

Contenuto di etilendiammina ($C_2H_8N_2$): non meno del 13,1 per cento e non più del 15,2 per cento della quantità di teofillina-etilendiammina indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida, di colore leggermente giallastro.

IDENTIFICAZIONE

- A. Ad una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 280 mg di teofillina-etilendiammina, aggiungere 2 ml di *acido cloridrico diluito R* goccia a goccia e sotto agitazione. Filtrare. Il precipitato, lavato con *acqua R* e seccato a temperatura compresa tra 100 °C e 105 °C, fonde (2.2.14) tra 270 °C e 274 °C.
- B. A 5 ml di soluzione aggiungere 2 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R* ed agitare: si sviluppa una colorazione rosso-blu.

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 8,6 e 9,0.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 16,8 U.I. di endotossine per millilitro di soluzione al 2,4 per cento *m/V* di teofillina-etilendiammina.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Teofillina. Ad un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a circa 80 mg di teofillina-etilendiammina, aggiungere 20 ml di *sodio idrossido 0,1 M* e 60 ml di *acqua R*; lasciare a riposo per 10 min, diluire a 200 ml con *acqua R* e agitare. Diluire 5,0 ml della soluzione ottenuta a 250 ml con *sodio idrossido 0,01 M*. Misurare l'assorbanza (2.2.25) della soluzione al massimo di assorbimento a 275 nm circa, utilizzando *sodio idrossido 0,01 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_7H_8N_4O_2$ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 650 nm.

Etilendiammina. Diluire un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a circa 300 mg di teofillina-etilendiammina, a 20 ml con *acqua R*, agitare, riscaldare a 50 °C per 30 min. Titolare con *acido solforico 0,05 M* usando come indicatore *verde bromocresolo soluzione R*, fino ad ottenere una colorazione verde.

1 ml di *acido solforico 0,05 M* equivale a 3,005 mg di $C_2H_8N_2$.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

La preparazione iniettabile contiene teofillina-etilendiammina pari a 240 mg /10 ml di $C_{16}H_{24}N_{10}O_4 \cdot 2H_2O$

TEOFILLINA-ETILENDIAMMINA SUPPOSTE

Aminofillina supposte

Le supposte di teofillina-etilendiammina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145).

DEFINIZIONE

Le supposte di teofillina-etilendiammina contengono *Teofillina-etilendiammina* o *Teofillina etilendiammina idrata* in adeguati eccipienti.

Contenuto di teofillina ($C_7H_8N_4O_2$): non meno del 76,0 per cento e non più dell'86,0 per cento della quantità di teofillina-etilendiammina indicata in etichetta.

Contenuto di etilendiammina ($C_2H_8N_2$): non meno del 10,9 per cento della quantità di teofillina-etilendiammina indicata in etichetta.

CARATTERI

Supposte omogenee, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Suddividere finemente alcune supposte.

- Fondere a b.m. una quantità di preparazione in esame, corrispondente a 250 mg di teofillina-etilendiammina, con 5 ml di *acqua R*, raffreddare e filtrare. A 2 ml del filtrato aggiungere 2 ml di *rame(-ico) solfato soluzione R* diluita 1 a 10 e agitare; si ottiene una colorazione rosso-blu.
- Disperdere una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 60 mg di teofillina-etilendiammina, in 10 ml di *cloroformio R*, scaldando se necessario. Trasferire in un imbuto separatore contenente 10 ml di *cloroformio R*, aggiungere una miscela di volumi uguali di *acido cloridrico R* e *acqua R* e agitare. Eliminare lo strato organico e lavare lo strato acquoso con 2 porzioni successive da 20 ml ciascuna di *cloroformio R*, eliminando lo strato organico. Evaporare a secco lo strato acquoso in capsula di porcellana. Al residuo aggiungere 1 ml di *acido cloridrico R* e 100 mg di *potassio clorato R* ed evaporare di nuovo a secco. Il residuo, di colore rossastro, per esposizione ai vapori di *ammoniaca diluita R1*, assume una colorazione porpora.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 supposte e suddividerle finemente.

Teofillina. Fondere a b.m. una quantità di prodotto, esattamente pesato e corrispondente a 250 mg di teofillina-etilendiammina, con 50-70 ml di *acqua R*, raffreddare, filtrare e lavare il filtro con alcune porzioni di *acqua R* fino ad ottenere un volume di 100 ml. Aggiungere 25 ml di *argento nitrato soluzione R2*, scaldare a b.m. per 15 min, agitando di tanto in tanto, raffreddare in bagno di ghiaccio per 30 min e filtrare. Lavare il residuo con tre porzioni successive da 20 ml ciascuna di *acqua R* calda e titolare i filtrati riuniti con *sodio idrossido 0,1 M* usando come indicatore *rosso metile soluzione R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 18,02 mg di $C_7H_8N_4O_2$.

Etilendiammina. Fondere a b.m. una quantità di prodotto, esattamente pesato e corrispondente a circa 600 mg di teofillina-etilendiammina, con 50-100 ml di *acqua R*; raffreddare, filtrare e lavare il filtro con alcune porzioni di *acqua R* ed evaporare a secco il filtrato. Disciogliere il residuo in 20 ml di *acqua R* e riscaldare a 50 °C per 30 min. Titolare con *acido solforico 0,05 M* usando come indicatore *verde bromocresolo soluzione R*, fino ad ottenere una colorazione verde.

1 ml di *acido solforico 0,05 M* equivale a 3,005 mg di $C_2H_8N_2$.

CONSERVAZIONE

In una confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le supposte contengono 100 mg o 300 mg di teofillina-etilendiammina.

TETRACAINA SUPPOSTE

Le supposte di tetracaina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni rettali (1145).

DEFINIZIONE

Le supposte di tetracaina contengono *Tetracaina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di tetracaina cloridrato ($C_{15}H_{25}ClN_2O_2$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Supposte omogenee, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Suddividere finemente alcune supposte e fondere a b.m. in 50 ml di *acqua R*. Raffreddare, filtrare ed evaporare a secco il filtrato. Sciogliere il residuo ottenuto in 7,5 ml di *acqua R* (soluzione A).

- A 5 ml di soluzione A aggiungere 1 ml di *ammonio tiocianato soluzione R*. Si ottiene un precipitato cristallino bianco che, ricristallizzato da *acqua R* e seccato a 80 °C per 2 h fonde a circa 131 °C.
- La soluzione A dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Suddividere finemente 20 supposte. Fondere a b.m. una quantità di preparazione in esame, corrispondente a circa 30 mg di tetracaina cloridrato, con 20 ml di *acqua R*. Raffreddare, filtrare e alcalinizzare il filtrato con *sodio idrossido soluzione diluita R*. Estrarre con 4 porzioni ciascuna da 15 ml di *cloroformio R* e filtrare. Riunire gli estratti cloroformici e titolare con *acido perclorico 0,01 M* in *acido acetico R*, usando come indicatore *rosso metile soluzione R*.

1 ml di *acido perclorico 0,01 M* equivale a 3,008 mg di $C_{15}H_{25}ClN_2O_2$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le supposte contengono 15 mg di tetracaina cloridrato.

TETRACICLINA CLORIDRATO CAPSULE

Le capsule di tetraciclina cloridrato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di tetraciclina cloridrato contengono *Tetraciclina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di tetraciclina cloridrato ($C_{22}H_{25}ClN_2O_8$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere gialla omogenea.

IDENTIFICAZIONE

Ad una quantità di polvere corrispondente a 10 mg circa di tetraciclina cloridrato aggiungere 20 ml di *alcol R* caldo (50-60 °C circa) e agitare. Lasciare a riposo per 20 min, filtrare ed evaporare a secco il filtrato su b.m. Il residuo ottenuto soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione.

- A 0,5 mg circa di residuo aggiungere 2 ml di *acido solforico R*. Si sviluppa una colorazione rosso-porpora che, per aggiunta di 1 ml di *acqua R*, vira al giallo cupo.
- Dà la reazione caratteristica (a) dei cloruri (2.3.1).
- Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice H R* come sostanza

Tetraciclina cloridrato capsule

di rivestimento. Portare il pH di una soluzione (100 g/l) di *sodio edetato R* a 8,0 con *sodio idrossido soluzione concentrata R* e spruzzare la soluzione uniformemente sulla lastra (circa 10 ml per una lastra di 100 mm × 200 mm). Lasciar asciugare la lastra in posizione orizzontale per almeno 1 h. Prima dell'uso seccare la lastra in stufa a 110 °C per 1 h.

Soluzione in esame. Pesare in un tubo da centrifuga una quantità di polvere corrispondente a 5 mg circa di tetraciclina cloridrato. Aggiungere 10 ml di *metanolo R*, agitare bene e centrifugare: utilizzare la soluzione sopranatante.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 5 mg di *tetraciclina cloridrato SCR* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 5 mg di *tetraciclina cloridrato SCR*, 5 mg di *clortetraciclina cloridrato SCR* e 5 mg di *doxiciclina iclato SCR* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm utilizzando una miscela di 6 volumi di *acqua R*, 35 volumi di *metanolo R* e 59 volumi di *diclorometano R*. Asciugare la lastra in corrente d'aria ed esaminare la lastra alla luce ultravioletta a 365 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a). Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) mostra tre macchie nettamente separate.

SAGGI

Impurezze che assorbono luce. Riunire il contenuto di alcune capsule e mescolare accuratamente. Ad una quantità di polvere, corrispondente a 125 mg di tetraciclina cloridrato, aggiungere 70 ml circa di *acido cloridrico diluito R1*, agitare per 10 min, diluire a 100,0 ml con *acido cloridrico R1* e, dopo agitazione, filtrare eliminando i primi 20 ml di filtrato. Determinare l'assorbanza (2.2.25) del rimanente filtrato a 430 nm, usando come bianco *acido cloridrico diluito R1* ed effettuando la lettura spettrofotometrica entro 1 h dall'aggiunta di *acido cloridrico diluito R1*. L'assorbanza non deve essere superiore a 0,4.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Mescolare il contenuto di 20 capsule. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 0,250 g circa di tetraciclina cloridrato, aggiungere 500 ml di *acqua R* ed agitare. Effettuare la titolazione microbiologica degli antibiotici (2.7.2) secondo le seguenti indicazioni.

Dosaggio per diffusione

Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)
Tetraciclina cloridrato	Acido cloridrico 0,01 M Acqua	4,5 (0,1 M)

Microrganismo	Terreno di coltura e pH finale (0,1 unità di pH)	Temperatura di incubazione
<i>Bacillus cereus</i> NCTC 10320 CIP 64.52 ATCC 11778	A-pH 6,6	30-37 °C
<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18	A-pH 6,6	30-37 °C

Dosaggio turbidimetrico

Sostanza di riferimento	Solvente da usare nella preparazione della soluzione madre	Soluzione tampone (pH)
Tetraciclina cloridrato	Acido cloridrico 0,01 M	4,5 (0,1 M)

Microrganismo	Terreno di coltura e pH finale (0,1 unità di pH)	Temperatura di incubazione
<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	C-pH 7,0	35-37 °C

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

Le capsule contengono 250 mg di tetraciclina cloridrato.

TETRACICLINA PREPARAZIONE INIETTABILE

Tetraciclina cloridrato polvere sterile
per preparazioni iniettabili

La preparazione iniettabile di tetraciclina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La preparazione iniettabile di tetraciclina è una soluzione sterile di *Tetraciclina cloridrato* in *Acqua per preparazioni iniettabili*.

Al momento dell'uso la soluzione iniettabile è preparata sciogliendo la polvere sterile di tetraciclina cloridrato nel prescritto volume di solvente.

Tetraciclina per preparazioni iniettabili

La tetraciclina cloridrato per preparazioni iniettabili soddisfa anche i requisiti delle polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

La tetraciclina cloridrato per preparazioni iniettabili è costituita da *Tetraciclina cloridrato polvere sterile*.

Contenuto di tetraciclina cloridrato ($C_{22}H_{25}ClN_2O_8$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

IDENTIFICAZIONE

A. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) utilizzando *gel di silice ottadecilsililato F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Disciogliere 5 mg della polvere in esame in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 5 mg di *tetraciclina cloridrato SCR* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 5 mg di *tetraciclina cloridrato SCR*, 5 mg di *demeclociclina cloridrato R* e 5 mg di *ossitettraciclina cloridrato R* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 1 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di circa 15 cm usando una miscela di 20 volumi di *acetone R*, 20 volumi di *metanolo R* e 60 volumi di una soluzione contenente 63 g/l di *acido ossalico R* in *acqua R* portata a pH 2 con *ammoniaca concentrata R*.

Asciugare la lastra all'aria ed esaminare alla luce ultravioletta a 254 nm. La macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame è simile, per posizione e dimensione, alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).

Il saggio è valido solo se il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) presenta tre macchie ben separate.

- B. A circa 2 mg aggiungere 5 ml di *acido solforico R*: si sviluppa una colorazione rosso porpora che per aggiunta di 2,5 ml di *acqua R* vira al giallo.
- C. Dà la reazione caratteristica dei cloruri (2.3.1).

SAGGI

pH. Disciogliere 0,1 g in 10 ml di *acqua esente da anidride carbonica R*. Il pH della soluzione deve essere compreso fra 1,8 e 2,8.

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29).

Soluzione in esame. Disciogliere una quantità di polvere equivalente a 25,0 mg di tetraciclina cloridrato in *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 25,0 ml col lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 25,0 mg di *tetraciclina cloridrato SCR* in *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 25,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 10 mg di *anidrotetraciclina cloridrato SCR* in *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (c). Disciogliere 10 mg di *4-epi-anidrotetraciclina cloridrato SCR* in *acido cloridrico 0,01 M* e diluire a 50,0 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (d). Mescolare 1,0 ml di soluzione di riferimento (a) e 5,0 ml di *soluzione di riferimento (c)* e diluire a 25,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*.

Soluzione di riferimento (e). Mescolare 10,0 ml di soluzione di riferimento (b) e 5,0 ml di *soluzione di riferimento (c)* e diluire a 200,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*.

Soluzione di riferimento (f). Diluire 1,0 ml di soluzione di riferimento (b) a 50,0 ml con *acido cloridrico 0,01 M*.

Tiabendazolo compresse

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,25 m e con diametro interno di 4,6 mm impaccata con *stirene-divinilbenzene copolimero R* (8 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,0 ml al minuto, una miscela di: 200 ml di una soluzione al 40 per cento (*m/V*) di *2-metil-2-propanolo R* in *acqua R*, 100 ml di una soluzione al 3,5 per cento (*m/V*) di *dipotassio idrogeno fosfato R* portata a pH 9,0 con *acido fosforico diluito R*, 200 ml di una soluzione all'1,0 per cento (*m/V*) di *tetrabutilammonio idrogeno solfato R* portato a pH 9,0 con *sodio idrossido soluzione diluita R*, 10 ml di una soluzione al 4 per cento (*m/V*) di *sodio edetato R* portato a pH 9,0 con *sodio idrossido soluzione diluita R* diluita a 1000 ml con *acqua R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 254 nm.

Mantenere la temperatura della colonna a 60 °C.

Iniettare 20 µl della soluzione in esame e delle soluzioni di riferimento (d), (e) ed (f). Il saggio è valido solo se nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (d) la risoluzione tra i picchi corrispondenti alla tetraciclina e alla 4-epianidrotetraciclina (3° picco) è almeno 8. Se necessario aggiustare la concentrazione del 2-metil-2-propanolo nella fase mobile.

Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame:

- l'area del picco corrispondente alla anidrotetraciclina non è maggiore dell'area del corrispondente picco nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (e) (0,5 per cento),
- l'area del picco corrispondente alla 4-epianidrotetraciclina non è maggiore dell'area del corrispondente picco nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (e) (0,5 per cento).

Rapporto segnale/rumore: minimo 3 per il picco principale ottenuto con la soluzione di riferimento (f).

Fattore di simmetria: al massimo 1,25 per il picco della tetraciclina ottenuto con la soluzione di riferimento (d).

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non più del 2,0 per cento, determinata per essiccamento per 3 h a 60 °C su *anidride fosforica R* ad una pressione non superiore a 670 Pa, su 1,000g.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 0,5 U.I. di endotossina per milligrammo di tetraciclina cloridrato.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media del contenuto dei flaconcini come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29) come descritto nel saggio Sostanze correlate con le seguenti modifiche:

- iniettare la soluzione in esame e la soluzione di riferimento (a).

Calcolare il contenuto di C₂₂H₂₅ClN₂O₈ in un contenitore utilizzando la massa media rispetto al contenuto dichiarato di C₂₂H₂₅ClN₂O₈ nella *tetraciclina cloridrato SCR*.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

- il contenuto di tetraciclina cloridrato espresso in termini di tetraciclina.

La preparazione iniettabile è costituita da un flaconcino contenente la polvere sterile e da una fiala di solvente.

I flaconcini possono contenere polvere sterile corrispondente a 250 mg di tetraciclina cloridrato; le fiale di solvente possono contenere 3 ml di acqua per preparazioni iniettabili.

TIABENDAZOLO COMPRESSE

Le compresse di tiabendazolo soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di tiabendazolo contengono *Tiabendazolo* in adeguati eccipienti.

Contenuto di tiabendazolo (C₁₀H₇N₃S): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di tiabendazolo, aggiungere 20 ml di *acqua R*, agitare e filtrare. Alcalinizzare il filtrato con *sodio idrossido 0,1 M* ed estrarre con 10 ml di

carbonio solfuro R. Filtrare la fase organica ed evaporare a secco il solvente in corrente di *azoto R* riscaldando leggermente.

Esaminare il residuo mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), in confronto con lo spettro ottenuto con *tiabendazolo SCR*. Esaminare le sostanze come dispersione in pasticche di *potassio bromuro R*.

- B. La soluzione preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 230 nm e 350 nm (2.2.25) mostra due massimi di assorbimento a 243 nm e a 302 nm.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 500 mg circa di tiabendazolo, aggiungere 75 ml di *acido cloridrico 0,1 M*, agitare e riscaldare a b.m. per 1 h. Raffreddare, diluire a 1000,0 ml con *acido cloridrico 0,1 M* e filtrare. Diluire 5,0 ml del filtrato a 500 ml con *acido cloridrico 0,1 M*. Contemporaneamente preparare una soluzione di riferimento (0,005 g/l) di *tiabendazolo SCR* in *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare le assorbanze delle due soluzioni al massimo di assorbimento a 302 nm circa, utilizzando *acido cloridrico 0,1 M* come bianco. Calcolare il contenuto di $C_{10}H_7N_3S$ tenendo conto delle assorbanze misurate e delle concentrazioni delle soluzioni.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 500 mg di tiabendazolo.

TIOPENTALE SODICO POLVERE STERILE PER PREPARAZIONE INIETTABILE

La polvere sterile per preparazione iniettabile di tiopentale sodico soddisfa anche ai requisiti delle Polveri per preparazioni iniettabili definiti nella monografia Preparazioni parenterali (0520).

DEFINIZIONE

Il tiopentale sodico per preparazione iniettabile è costituito da *Tiopentale sodico e sodio carbonato* polvere sterile.

Contenuto di tiopentale sodico ($C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$): non meno del 93,0 per cento e non più del 107,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di sodio (Na): non meno del 10,0 per cento e non più dell'11,5 per cento, della quantità indicata di *Tiopentale sodico e sodio carbonato*.

IDENTIFICAZIONE

- A. Disciogliere 1,0 g in *acqua esente da anidride carbonica R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente. Acidificare con *acido cloridrico diluito R*. Si produce effervescenza. Agitare con 20 ml di *etere R*. Separare lo strato etereo, lavarlo con 10 ml di *acqua R*, seccarlo su *sodio solfato anidro R* e filtrare. Evaporare a secco il filtrato e seccare il residuo a 100-105 °C (residuo in esame). Determinare il punto di fusione (2.2.14) del residuo in esame. Mescolare parti uguali del residuo in esame e di *tiopentale SCR* e determinare il punto di fusione della miscela. La differenza tra i punti di fusione (che sono di circa 160 °C) non è superiore a 2 °C.
- B. Esaminare mediante spettrofotometria di assorbimento infrarosso (2.2.24), confrontando lo spettro ottenuto con il residuo in esame (vedi saggio A di identificazione) con lo spettro ottenuto con *tiopentale SCR*.
- C. Dà la reazione caratteristica dei barbiturici non sostituiti all'azoto (2.3.1).
- D. Dà la reazione caratteristica (a) del sodio (2.3.1).

SAGGI

Aspetto della soluzione. Una soluzione al 10,0 per cento m/m in *acqua esente da anidride carbonica R* deve essere limpida (2.2.1), priva di particelle indissolte e non più intensamente colorata della soluzione di riferimento GV_3 (*Metodo II*, 2.2.2).

Sostanze correlate. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice GF_{254} R* come sostanza di rivestimento.

Sostanza in esame. Disciogliere 1,0 g di sostanza in esame in *acqua R* e diluire a 100 ml con lo stesso solvente. Trascurare un eventuale piccolo residuo.

Soluzione di riferimento. Diluire 0,5 ml della soluzione in esame a 100 ml con *acqua R*.

Deporre separatamente sulla lastra 20 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 15 cm usando lo strato inferiore di una miscela di 5 volumi di *ammoniaca concentrata R*, 15 volumi di *alcool R* e 80 volumi di *cloroformio R*. Esaminare immediatamente alla luce ultravioletta a 254 nm. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame nessuna macchia, ad eccezione della macchia principale, è più intensa della mac-

Tioridazina compresse rivestite

chia del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (0,5 per cento). Trascurare un'eventuale macchia al punto di partenza.

Perdita all'essiccamento (2.2.32). Non superiore al 2,5 per cento, determinata su 0,50 g per essiccamento sotto vuoto a 100 °C per 4 h.

Endotossine batteriche (2.6.14). Non più di 1 U.I./mg.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Determinare la massa media dei contenuti dei flaconcini come descritto nel saggio Uniformità di massa (2.9.5) delle Preparazioni parenterali - Polveri per preparazioni iniettabili.

Tiopentale. Disciogliere 0,150 g di polvere, prelevata dai contenuti riuniti dei flaconcini, in 5 ml di *acqua R*. Aggiungere 2 ml di *acido solforico diluito R* ed agitare con quattro porzioni, da 10 ml ciascuna, di *cloroformio R*. Riunire gli strati cloroformici, filtrare ed evaporare a secco il filtrato a b.m. Disciogliere il residuo in 30 ml di *dimetilformamide R*, precedentemente neutralizzata, ed aggiungere 0,1 ml di una soluzione (2 g/l) di *blu timolo R*. Titolare immediatamente con *litio metossido 0,1 M* fino a far virare la colorazione al blu. Durante la titolazione proteggere la soluzione dall'anidride carbonica dell'aria.

Calcolare il contenuto di tiopentale in un contenitore utilizzando la massa media e considerando che 1 ml di *litio metossido 0,1 M* equivale a 26,43 mg di $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$.

Sodio. Disciogliere 0,400 g di polvere, prelevata dai contenuti riuniti dei flaconcini, in 30 ml di *acqua R*. Aggiungere 0,1 ml di *rosso metile soluzione R* e titolare con *acido cloridrico 0,1 M* fino a far virare la colorazione al rosso. Bollire leggermente per 2 min. Raffreddare e, se necessario, continuare la titolazione con *acido cloridrico 0,1 M* fino a far virare nuovamente la colorazione al rosso.

1 ml di *acido cloridrico 0,1 M* equivale a 2,299 mg di Na.

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce.

ETICHETTE

L'etichetta indica inoltre:

– il contenuto di tiopentale sodico e sodio carbonato.

I flaconcini possono contenere polvere sterile corrispondente a 0,5 g, 1 g o 1,5 g di tiopentale sodico.

La preparazione iniettabile si ottiene disciogliendo la polvere sterile contenuta nel flaconcino con il prescritto volume di Acqua per preparazioni iniettabili o Glucosio infusione endovenosa 5 per cento o Sodio cloruro infusione endovenosa 0,9 per cento. La soluzione deve essere usata immediatamente dopo la sua preparazione.

TIORIDAZINA COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse rivestite di tioridazina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse rivestite di tioridazina contengono *Tioridazina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di tioridazina cloridrato ($C_{21}H_{27}ClN_2S_2$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce.

- La soluzione, preparata come descritto nella Determinazione quantitativa, esaminata tra 230 nm e 350 nm (2.2.25) mostra un massimo di assorbimento a 264 nm ed uno, meno definito, a 315 nm.
- Esaminare il cromatogramma ottenuto nel saggio per le sostanze correlate. La macchia principale nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, è simile per posizione, colore e dimensione alla macchia principale del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (a).
- Polverizzare finemente alcune compresse. Ad una quantità di polvere, corrispondente a 5 mg di tioridazina, aggiungere 5 ml di *acido solforico R*. Dopo qualche minuto si sviluppa una colorazione blu.

SAGGI

Sostanze correlate. *Operare al riparo dalla luce.* Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), utilizzando *gel di silice 60 F₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 50 mg di tioridazina cloridrato, con 5 ml di *cloroformio R*. Centrifugare e usare il liquido soprannatante.

Soluzione di riferimento (a). Preparare una soluzione (10 g/l) di *tioridazina cloridrato SCR* in *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (b). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 200 ml con *cloroformio R*.

Soluzione di riferimento (c). Diluire 1 ml della soluzione in esame a 100 ml con *cloroformio R*.

Deporre separatamente sulla lastra 5 µl di ciascuna soluzione. Eluire per un percorso di 12 cm usando una miscela di 74 volumi di *cloroformio R*, 25 volumi di *isopropanolo R* ed 1 volume di *ammoniaca R*. Lasciar seccare la lastra all'aria ed osservare alla luce ultravioletta a 254 nm. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame compaiono altre macchie, oltre alla principale, una sola di esse può essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (b), ma non deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di riferimento (c).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente al peso medio di 1 compressa, aggiungere 80 ml di *alcool R*, agitare a lungo e filtrare. Lavare il residuo con *alcool R* che si aggiunge al filtrato, portando al volume di 100 ml. Diluire 10 ml a 100 ml con *alcool R* e diluire 5 ml di questa soluzione a 50 ml sempre con *alcool R*. Misurare l'assorbanza della soluzione (2.2.25) al massimo di assorbimento a 264 nm circa, utilizzando *alcool R* come bianco. Calcolare il contenuto di C₂₁H₂₇ClN₂S₂ considerando che il valore dell'assorbanza specifica è di 950.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 25 mg o 50 mg di tioridazina cloridrato.

TOLBUTAMIDE COMPRESSE

Le compresse di tolbutamide soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di tolbutamide contengono *Tolbutamide* in adeguati eccipienti.

Contenuto di tolbutamide (C₁₂H₁₈N₂O₃S): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse.

- A. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 500 mg di tolbutamide, con 10 ml di *ammoniaca diluita R2* e filtrare. Aggiungere al filtrato 10 ml di *acido acetico diluito R* e lasciare a riposo la miscela in un luogo fresco. Il precipitato che si forma, filtrato, lavato con *acqua R* fredda ed essiccato in stufa a 105 °C, ha un punto di fusione (2.2.14) compreso tra 126 °C e 130 °C.
- B. Trasferire in un pallone tarato da 200 ml una quantità di polvere corrispondente a circa 200 mg di tolbutamide. Aggiungere *cloroformio R*, agitare e portare a volume. Filtrare ed estrarre 25 ml del filtrato con porzioni successive da 15 ml ciascuna di *sodio idrossido 0,1 M*. Riunire gli estratti alcalini, acidificare con *acido cloridrico R* ed estrarre la soluzione acida con 4 porzioni successive da 20 ml ciascuna di *cloroformio R*. Evaporare a secco gli estratti cloroformici riuniti e riprendere il residuo con 100 ml di *metanolo R*. Esaminata tra 245 nm e 300 nm (2.2.25), la soluzione ottenuta mostra tre massimi di assorbimento a 258 nm, 263 nm e 275 nm ed una spalla a 268 nm.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Agitare una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 500 mg di tolbutamide, con

Trifluoperazina compresse rivestite

50 ml di *dimetilformammide R*, precedentemente neutralizzata con *sodio metossido 0,1 M* in presenza di *azzurro timolo R* in *dimetilformammide R*. Titolare con *sodio metossido 0,1 M* usando come indicatore *azzurro timolo soluzione R* in *dimetilformammide R*.

1 ml di *sodio metossido 0,1 M* equivale a 27,04 mg di $C_{12}H_{18}N_2O_3S$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa.

Le compresse contengono 500 mg di tolbutamide.

TRIFLUOPERAZINA COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse di trifluoperazina soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Compresse (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di trifluoperazina contengono *Trifluoperazina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di trifluoperazina cloridrato ($C_{21}H_{26}Cl_2F_3N_3S$): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Operare al riparo dalla luce.

Polverizzare finemente alcune compresse.

A. Estrarre con 20 ml di *acido cloridrico 0,1 M* una quantità di polvere, corrispondente a 2 mg circa di trifluoperazina cloridrato, e filtrare. La soluzione, esaminata allo spettrofotometro tra 280 nm e 350 nm, mostra un massimo di assorbimento (2.2.25) a 305 nm circa. Diluire 1 ml della soluzione a 20 ml con lo stesso acido. La soluzione, esaminata allo spettrofotometro tra 250 nm e 280 nm, mostra un massimo di assorbimento (2.2.25) a 255 nm circa.

B. Estrarre con 4 ml di *acqua R* una quantità di polvere, corrispondente a 2 mg circa di trifluoperazina cloridrato, e filtrare. Aggiungere 0,1 ml di *acqua di bromo R* ed agitare per 1 min. Aggiungere goccia a goccia 1 ml di *acido solforico R*, agitando vigorosamente e di continuo. Si sviluppa una colorazione rossa.

C. Agitare con 5 ml di *acetone R* una quantità di polvere corrispondente a 10 mg circa di trifluoperazina cloridrato. La soluzione soddisfa al saggio di identificazione delle fenotiazine mediante cromatografia su strato sottile (2.3.3).

SAGGI

Uniformità di contenuto (2.9.6). *Operare al riparo della luce.*

In un imbuto separatore da 250 ml, ad ogni compressa finemente polverizzata aggiungere 25 ml di *acido cloridrico diluito R*. Proseguire come descritto nella Determinazione quantitativa a partire dalle parole: «Alcalinizzare con *ammoniaca concentrata R* ...».

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Operare al riparo dalla luce.

Pesare e polverizzare finemente non meno di 20 compresse. In un pallone tarato da 250 ml trasferire una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a circa 20 mg di trifluoperazina, aggiungere 150 ml di *acido cloridrico diluito R* e agitare per 15 min. Portare a volume con *acido cloridrico diluito R*, mescolare e filtrare una parte della sospensione scartando i primi 25 ml di filtrato. Trasferire 25,0 ml del filtrato in un imbuto separatore da 250 ml, alcalinizzare con *ammoniaca concentrata R* ed estrarre con 4 porzioni successive ciascuna da 25 ml di *etere R*. Estrarre la soluzione eterea con 4 porzioni successive, ciascuna da 25 ml, di *acido cloridrico 0,1 M* raccogliendo gli strati acquosi in un matraccio tarato da 250,0 ml e portando a volume con *acido cloridrico 0,1 M*. Misurare l'assorbimento (2.2.25) della soluzione ottenuta al massimo di assorbimento a 255 nm circa usando come bianco *acido cloridrico 0,1 M*. Calcolare il contenuto di $C_{21}H_{26}Cl_2F_3N_3S$ considerando che il valore dell'assorbimento specifica è di 650.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse contengono 2 mg di trifluoperazina cloridrato.

VALERIANA CAPSULE

Le capsule di valeriana soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia Capsule (0016).

DEFINIZIONE

Le capsule di valeriana contengono *Valeriana estratto idroalcolico secco* in adeguati eccipienti.

Preparazione: setacciare se necessario l'estratto secco e mescolare con una opportuna quantità di eccipienti.

CARATTERI

Capsule rigide contenenti una polvere marrone bruna, di aspetto omogeneo, di odore caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

- A. Odore caratteristico.
 B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27), usando *gel di silice G R* come sostanza di rivestimento.

Soluzione in esame. Ad una quantità di polvere corrispondente a 0,20 g di valeriana estratto idroalcolico secco aggiungere 5 ml di *diclorometano R* e lasciare a riposo per 5 min. Agitare di tanto in tanto e filtrare. Lavare il filtro con 2 ml di *diclorometano R*. Raccogliere il filtrato ed il liquido di lavaggio in un tubo da saggio. Scaldare a b.m. per il tempo strettamente necessario ad eliminare il solvente. Disciogliere il residuo in 1 ml di *metanolo R*.

Soluzione di riferimento (a). Disciogliere 2 mg di *amminoazobenzene R* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Soluzione di riferimento (b). Disciogliere 2 mg di *acido valerico R* in *metanolo R* e diluire a 10 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra, come bande da 20 mm per 3 mm, 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire due volte per un percorso di 10 cm usando una miscela di 30 volumi di *etile acetato R* e 70 volumi di *esano R* e lasciare seccare la lastra all'aria dopo la prima e la seconda eluizione. Spruzzare con *aldeide anisica soluzione R*. Scaldare a 100-105 °C per 5-10 min. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta una banda di colore viola scura simile, per posizione e colore, a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento (b) e, qualche volta, al di sopra di questa, una banda di colore bruno grigiastro

(valtrato ed isovaltrato). Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta inoltre, ad un R_f inferiore a quello della banda dell'amminoazobenzene, una debole banda violetta (acido acetossivalerico); tra il punto di partenza e la banda corrispondente all'acido valerico, sono anche presenti altre bande colorate in grigio e nella parte superiore alcune bande violette di intensità variabile. Nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame, immediatamente al di sotto del punto di partenza, può apparire una banda violetta di debole intensità.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, protetto dalla luce e dall'umidità.

Le capsule di valeriana contengono 50 mg di valeriana estratto idroalcolico secco.

VASELINA E LANOLINA
UNGUENTO BASE

Lanovaselina unguento base

L'unguento base alla vaselina e lanolina soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento ha la seguente composizione:

<i>Vaselina bianca</i>	90 g
<i>Lanolina</i>	5 g
<i>Alcool cetostearilico</i>	5 g

Può contenere antiossidanti.

Preparazione: fondere insieme i componenti a mite calore, agitando sino a raffreddamento. Parte della vaselina bianca può essere sostituita con paraffina solida o paraffina liquida per variare la consistenza della massa.

CARATTERI

Unguento quasi bianco o giallo pallido, omogeneo, semisolido.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, lontano da fonti di calore.

VITAMINE B COMPRESSE RIVESTITE

Le compresse di vitamine B soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse* (0478).

DEFINIZIONE

Le compresse di vitamine B contengono *Nicotinamide*, *Tiamina cloridrato*, *Riboflavina*, *Calcio pantotenato* e *Piridossina cloridrato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di nicotinamide ($C_6H_6N_2O$), di tiamina cloridrato ($C_{12}H_{18}C_2N_4OS$), di riboflavina ($C_{17}H_{20}N_4O_6$), di calcio pantotenato ($C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$) e di piridossina cloridrato ($C_8H_{12}ClNO_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento delle quantità indicate in etichetta.

CARATTERI

Compresse rivestite, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

- A. Esaminare i cromatogrammi ottenuti nella Determinazione quantitativa. I picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame sono simili, per tempo di ritenzione e dimensione approssimativa, ai picchi principali del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.
- B. Esaminare mediante cromatografia su strato sottile (2.2.27) usando *gel di silice HF₂₅₄ R* come sostanza di rivestimento

Soluzione in esame. Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere pari al peso medio di una compressa con 10 ml di *acqua R* e filtrare.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 20 mg di *calcio pantotenato SCR* in *acqua R* e diluire a 100,0 ml con lo stesso solvente.

Deporre separatamente sulla lastra 10 µl di ciascuna soluzione. Eluire, per un percorso di circa 15 cm, usando una miscela di 70 volumi di *toluene R*, 20 volumi di *metanolo R*, 5 volumi di *acetone R* e 5 volumi di *acido acetico anidro R*. Lasciar seccare all'aria e seccare a 160 °C per 30 min. Spruzzare con *ninidrina soluzione R1* e scaldare a 110 °C per 10 min. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame presenta una macchia simile, per posizione e colore, a quella del cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Nicotinamide, tiamina cloridrato, riboflavina e piridossina cloridrato. Esaminare mediante cromatografia liquida (2.2.29). Operare al riparo dalla luce.

Soluzione in esame. Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere corrispondente al peso medio di 3 compresse, aggiungere una miscela costituita da 50 volumi di *acetonitrile R* e 50 volumi di *acqua R* e portare a 100,0 ml. Lasciare sotto agitazione per 30 min e filtrare. Prelevare 1,0 ml e diluire a 10,0 ml con la fase mobile.

Soluzione di riferimento. Disciogliere 600 mg di *nicotinamide SCR*, 150 mg di *tiamina cloridrato R*, 60 mg di *riboflavina SCR* e 60 mg di *piridossina cloridrato SCR* in una miscela di 50 volumi di *acetonitrile R* e 50 volumi di *acqua R* e diluire a 1000,0 ml con la stessa miscela di solventi. Prelevare 1,0 ml e diluire a 10 ml con la fase mobile.

Il procedimento cromatografico può essere eseguito usando:

- una colonna di acciaio inossidabile lunga 0,30 m e con diametro interno di 3,9 mm impaccata con *gel di silice ottadecilsililato per cromatografia R* (10 µm),
- come fase mobile, ad una velocità di flusso di 1,2 ml per minuto, una miscela di 27 volumi di *metanolo R*, 1 volume di *acido acetico glaciale R* e 73 volumi di una soluzione (1,4 g/l) di *sodio esansolfonato R*,
- come rivelatore uno spettrofotometro regolato a 280 nm.

Mantenere la temperatura della colonna a 50 °C. Equilibrare la colonna per almeno 30 min con la fase mobile. Iniettare, per 6 volte, 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. La determinazione quantitativa è valida solo se la deviazione standard relativa delle aree dei picchi dei principi attivi non è superiore al 2,0 per cento e se la risoluzione fra il picco della nicotinamide e quello della piridossina cloridrato è almeno 2,0; se necessario aggiustare le concentrazioni dei componenti della fase mobile in modo da ottenere la risoluzione richiesta. Iniettare 20 µl della soluzione di riferimento e registrare il cromatogramma. Iniettare 20 µl della soluzione in esame e registrare il cromatogramma. Calcolare il contenuto di $C_6H_6N_2O$, di $C_{12}H_{18}C_2N_4OS$, di $C_8H_{12}ClNO_3$ e di $C_{17}H_{20}N_4O_6$ dalle aree dei picchi ottenuti con la soluzione in esame e la soluzione di riferimento.

Calcio pantotenato. Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Ad una quantità di polvere, corrispondente a circa 40 mg di calcio pantotenato, aggiungere 80 ml di *acqua R*, 1 g di *carbone attivato R*

e scaldare a b.m. agitando per 30 min. Raffreddare, filtrare e aggiungere una soluzione di *sodio idrossido diluito R* fino ad ottenere pH 12. Effettuare una titolazione complessometrica utilizzando *sodio edetato 0,01 M* e come indicatore *acido calconcarbonico R*; il viraggio va dal violetto al blu.

1 ml di *sodio edetato 0,01 M* equivale a 4,76 mg di $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dalla luce.

Le compresse rivestite contengono 20,0 mg di nicotina-mide, 5,0 mg di tiamina cloridrato, 2,0 mg di riboflavina, 2 mg di calcio pantotenato e 2 mg di piridossina cloridrato.

ZINCO OSSIDO PASTA CUTANEA

Zinco all'acqua

La pasta cutanea di zinco ossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La pasta cutanea di zinco ossido contiene il 25 per cento m/m di *Zinco ossido*, il 25 per cento m/m di *Talco*, il 25 per cento m/m di *Glicerolo 85 per cento* ed il 25 per cento m/m di *Acqua depurata*.

Contenuto di zinco ossido (ZnO): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: mescolare lo *Zinco ossido* e il *Talco* opportunamente setacciati. Levigare le polveri con *Glicerina* aggiunta in porzioni successive. Alla fine, sempre a porzioni, aggiungere l'*Acqua depurata*, bollita di recente, mescolando fino a completa omogeneizzazione.

CARATTERI

Pasta bianca, semifluida, versabile, di aspetto caratteristico.

IDENTIFICAZIONE

Pesare 2 g circa di preparazione e riscaldare con 50 ml di *acido cloridrico diluito R*. Lasciare raffreddare.

Filtrare. Al filtrato aggiungere 2 ml di *potassio ferrocianuro soluzione R*. Si osserva la formazione di un precipitato bianco.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Zinco ossido. Pesare esattamente circa 0,5 g di preparazione in un recipiente da 100 ml. Aggiungere 30 ml di *acqua R* e 10 ml di *acido cloridrico 2 M*. Riscaldare leggermente per facilitare la dissoluzione dell'ossido di zinco. Raffreddare. Aggiungere 7 ml circa di *sodio idrossido 2 M* e 50 mg di *xilenoloarancio miscela composta R*. Aggiungere *esametilentetrammina R* fino a viraggio al rosa-violetto e aggiungere ancora poca *esametilentetrammina R* in eccesso. Titolare con *sodio edetato 0,1 M* fino a viraggio da rosa-violetto a giallo. Calcolare il contenuto percentuale di ZnO.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 8,14 mg di ZnO.

CONSERVAZIONE

In contenitori non metallici ben chiusi.

ZINCO OSSIDO POLVERE CUTANEA

Talco allo zinco ossido

La polvere cutanea di zinco ossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Polveri per applicazione cutanea (1166).

DEFINIZIONE

La polvere cutanea di zinco ossido contiene il 10 per cento m/m di *Zinco ossido* disperso in *Talco*.

Contenuto di zinco ossido (ZnO): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: disperdere lo *Zinco ossido*, finemente setacciato e pesato, nel *Talco* aggiunto per diluizioni successive.

CARATTERI

Polvere bianca di aspetto omogeneo.

IDENTIFICAZIONE

Disperdere 1 g circa di preparazione in *acido cloridrico diluito R* e filtrare. La soluzione ottenuta dà la reazione caratteristica dello zinco (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Disperdere 1,0 g di preparazione in 10 ml di *acido acetico diluito R* e riscaldare lievemente; filtrare quantitativamente. Effettuare sul filtrato la titolazione complessometrica dello zinco (2.5.11).

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 8,14 mg di ZnO.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, non metallico.

ZINCO OSSIDO SOSPENSIONE CUTANEA

Olio e zinco ossido linimento

La sospensione cutanea di zinco ossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni liquide per applicazione cutanea (0927).

DEFINIZIONE

La sospensione di zinco ossido contiene il 50 per cento *m/m* di *Zinco ossido* in *Olio di oliva*.

Contenuto di zinco ossido (ZnO): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Sospensione bianca, omogenea, semifluida di odore di olio di oliva; l'olio, con il riposo, tende ad affiorare.

IDENTIFICAZIONE

- Introdurre una piccola quantità di preparazione in una capsula di porcellana e riscaldare su una piccola fiamma fino a che l'olio di oliva è completamente carbonizzato. Aumentare quindi il calore e calcinare. Il residuo ottenuto vira al giallo se scaldato fortemente; la colorazione gialla scompare per raffreddamento.
- Disciogliere il residuo ottenuto nella reazione di identificazione A in 2,5 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 5 ml con *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica dello zinco (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 0,1 g circa di zinco ossido, in una capsula di porcellana e riscaldare su una piccola fiamma fino a che l'olio di oliva è completamente carbonizzato. Aumentare quindi il calore fino a calcinazione. Disciogliere il residuo ottenuto in 10 ml di *acido acetico diluito R*. Effettuare la titolazione complessometrica dello zinco (2.5.11).

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 8,14 mg di ZnO.

CONSERVAZIONE

In recipienti non metallici ben chiusi, protetti dalla luce, lontano da fonti di calore.

ZINCO OSSIDO UNGUENTO

L'unguento di zinco ossido soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di zinco ossido contiene il 10 per cento *m/m* di *Zinco ossido* in adeguati eccipienti.

Contenuto di zinco ossido (ZnO): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento bianco, omogeneo, di consistenza pastosa.

IDENTIFICAZIONE

Introdurre circa 1 g di preparazione in un crogiolo di porcellana e scaldare su fiamma fino a completa volatilizzazione o carbonizzazione degli eccipienti. Il residuo soddisfa alle seguenti reazioni di identificazione.

- Vira al giallo se scaldato fortemente; la colorazione gialla scompare per raffreddamento.
- Disciogliere 0,1 g di residuo in 1,5 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 5 ml con *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica dello zinco (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre una quantità di preparazione, esattamente pesata e corrispondente a 0,1 g circa di zinco ossido, in un imbuto separatore, aggiungere 20 ml di *cloroformio R* ed agitare. Aggiungere 20 ml di *acido acetico diluito R* ed agitare. Lasciare a riposo fino a separazione delle due fasi. Estrarre con precauzione la fase cloroformica. Lavare la fase acquosa con 10 ml di *cloroformio R*. Trasferire quantitativamente la fase acquosa in una beuta da 500 ml lavando con *acido acetico diluito R*. Eliminare mediante riscaldamento a b.m. eventuali tracce di cloroformio. Diluire a 200 ml con *acqua R*. Aggiungere circa 50 mg di *xilenoloarancio miscela composta R* ed *esametilentetrammina R* fino a che la soluzione diventa rosa-violetta. Aggiungere 2 g di *esametilentetrammina R* e titolare con *sodio edetato 0,1 M* fino al viraggio dell'indicatore dal rosa-violetto al giallo.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 8,14 mg di ZnO.

CONSERVAZIONE

In contenitori ben chiusi, lontano da fonti di calore.

ZINCO OSSIDO COMPOSTO POLVERE CUTANEA

Talco timolato polvere aspersione

La polvere cutanea di zinco ossido composto soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Polveri per applicazione cutanea (1166)*.

DEFINIZIONE

La polvere cutanea di zinco ossido composto ha la seguente composizione:

<i>Magnesio carbonato leggero</i>	33 g
<i>Zinco ossido</i>	12,9 g
<i>Timolo</i>	0,1 g
<i>Talco</i>	54 g

Preparazione: disperdere per successive aggiunte il *Timolo*, finemente polverizzato, in 10-13 g di *Talco*. Aggiungere alla miscela lo *Zinco ossido*, finemente setacciato, poi il *Magnesio carbonato leggero* e, infine, il resto del *Talco*, mescolando accuratamente. Setacciare se necessario.

CARATTERI

Polvere bianca di aspetto omogeneo, di odore caratteristico di timolo.

IDENTIFICAZIONE

- Ad 1 g di polvere, aggiungere 3 ml di *acido cloridrico diluito R*. La sospensione sviluppa effervescenza.
- Alla sospensione ottenuta nella reazione di identificazione A, aggiungere 10 ml di *ammonio cloruro soluzione R* e 5 ml di *ammoniaca R*, agitare e filtrare. A 5 ml di filtrato aggiungere 5 gocce di *tioacetammide soluzione R* scaldare a 40-50 °C; si forma un precipitato bianco di solfuro di zinco. Filtrare ed aggiungere al filtrato *sodio idrossido soluzione diluita R*; si ottiene un precipitato bianco fioccoso di idrossido di magnesio.

CONSERVAZIONE

In recipienti non metallici ben chiusi.

ZINCO OSSIDO E ACIDO SALICILICO PASTA CUTANEA

Pasta di Lassar

La pasta cutanea di zinco ossido e acido salicilico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132)*.

DEFINIZIONE

La pasta cutanea di zinco ossido e acido salicilico ha la seguente composizione:

<i>Zinco ossido</i>	25,0 g
<i>Acido salicilico</i>	2,0 g
<i>Amido</i>	25,0 g
<i>Vaselina bianca q.b. a</i>	100 g

Contenuto di zinco ossido (ZnO): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di acido salicilico (C₇H₆O₃): non meno del 95,0 per cento e non più del 105,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Pasta bianca, omogenea, molto consistente.

IDENTIFICAZIONE

- A. Scaldare 2 g circa di preparazione per 5 min in un matraccio con 10 ml di *acido cloridrico diluito R*, lasciar raffreddare e filtrare. Alcalinizzare il filtrato con *ammoniaca concentrata R*; si ottiene un precipitato bianco che si discioglie di nuovo in un eccesso di reagente. Trattare la soluzione così ottenuta con *acido solforico R*: si ottiene un precipitato bianco.
- B. Fondere in un pallone a b.m. 5 g circa di preparazione in 20 ml di *acqua R* e filtrare a caldo. Ad alcuni millilitri di filtrato aggiungere alcune gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione R*: si sviluppa una colorazione violetta.
- C. Diluire alcuni millilitri del filtrato ottenuto nella reazione di identificazione B con altrettanti millilitri di *acqua R* ed aggiungere 2 gocce di *iodio soluzione R*: si sviluppa una colorazione violetta.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Zinco ossido. In una beuta introdurre 0,5 g circa di preparazione, esattamente pesati, aggiungere 30 ml di *acqua R*, 20 ml di *acido solforico diluito R* e scaldare a b.m. fino a completa fusione della massa. Dopo raffreddamento neutralizzare con una soluzione (10 g/l) di *sodio idrossido R* in *acqua R*, aggiungere alcuni millilitri di *ammoniaca concentrata R* ed alcuni grammi di *ammonio cloruro R* e titolare con *sodio edetato 0,1 M*, usando come indicatore *nero mordente R*, fino a viraggio dal rosso al verde-azzurro.

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 8,14 mg di ZnO.

Acido salicilico. Pesare esattamente in una beuta 5 g circa di preparazione, aggiungere 50 ml di *alcol R* neutralizzato al *rosso fenolo R*, scaldare a b.m. mescolando bene per favorire la dissoluzione dell'acido salicilico e titolare con *sodio idrossido 0,1 M*, usando come indicatore *rosso fenolo R*.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 13,81 mg di $C_7H_6O_3$.

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso, al riparo dalla luce e dal calore.

ZINCO OSSIDO E GLICEROLO PASTA CUTANEA

Pasta molle di Unna

La pasta cutanea allo zinco ossido e glicerolo soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

La pasta cutanea di zinco ossido e glicerolo ha la seguente composizione:

<i>Zinco ossido</i>	10 g
<i>Glicerolo 85 per cento</i>	40 g
<i>Gelatina</i>	15 g
<i>Acqua depurata</i>	35 g

Contenuto di zinco ossido (ZnO): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: stemperare lo *Zinco ossido* finemente polverizzato nel *Glicerolo 85 per cento*; aggiungere la miscela così ottenuta nella soluzione calda della *Gelatina* nell'*Acqua depurata*.

CARATTERI

Pasta bianca, omogenea, elastica.

IDENTIFICAZIONE

- A. Scaldare cautamente 1 g di preparazione in una capsula di porcellana su piccola fiamma fino a completa volatilizzazione e carbonizzazione. Aumentare quindi il calore e calcinare. Il residuo ottenuto vira al giallo se scaldato fortemente; la colorazione gialla scompare per raffreddamento.
- B. Disciogliere il residuo ottenuto nella reazione di identificazione A in 2,5 ml di *acido cloridrico diluito R* e diluire a 5 ml con *acqua R*. La soluzione dà la reazione caratteristica dello zinco (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre 1,0 g di preparazione, esattamente pesati, in una capsula di porcellana e riscaldare su piccola fiamma fino a completa volatilizzazione o carbonizzazione. Aumentare quindi il calore e calcinare. Disciogliere il residuo ottenuto in 10 ml di *acido acetico diluito R*. Effettuare la titolazione complessometrica dello zinco (2.5.11).

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 8,14 mg di ZnO.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, non metallico, protetto dal calore.

ZINCO OSSIDO E OLIO DI MANDORLA UNGUENTO

Olio di mandorla con zinco unguento

L'unguento di zinco ossido e olio di mandorla soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolide per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di zinco ossido e olio di mandorla ha la seguente composizione:

Olio di mandorla	75 g
Zinco ossido	5 g
Cera bianca	10 g
Paraffina solida	10 g

Contenuto di zinco ossido (ZnO): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Preparazione: levigare lo *Zinco ossido*, finemente setacciato e pesato, con una piccola quantità di *Olio di mandorla* fino ad ottenere una pasta omogenea senza grumi. A parte fondere la *Cera bianca* e la *Paraffina solida* e riscaldare cautamente a calore mite l'*Olio di mandorla*. Riunire tutto in una capsula e mescolare fino a raffreddamento.

CARATTERI

Unguento bianco, omogeneo, semisolido, di odore caratteristico di olio di mandorla.

IDENTIFICAZIONE

Dibattere 2 g circa di preparazione con 10 ml di *acido cloridrico diluito R* e filtrare. Il filtrato dà la reazione caratteristica dello zinco (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Introdurre 0,2 g di preparazione, esattamente pesati, in una capsula di porcellana e riscaldare su piccola fiamma fino a che la componente organica è completamente volatilizzata o carbonizzata. Aumentare quindi il calore fino a calcinazione. Disciogliere il residuo ottenuto in 10 ml di *acido acetico diluito R*. Effettuare la titolazione complessometrica dello zinco (2.5.11).

1 ml di *sodio edetato 0,1 M* equivale a 8,14 mg di ZnO.

CONSERVAZIONE

In recipiente ben chiuso, non metallico, protetto dalla luce.

ZINCO SOLFATO COLLIRIO SOLUZIONE

Zinco solfato soluzione oftalmica

Il collirio soluzione di zinco solfato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni oftalmiche (1163).

DEFINIZIONE

Il collirio soluzione di zinco solfato è una soluzione isotonica e sterile avente la seguente composizione:

Zinco solfato	5 g
Sodico solfato anidro	15 g
Acqua depurata sterile q. b. a	1000 ml

Contiene un adatto antibatterico.

Contenuto di zinco solfato (ZnSO₄·7H₂O): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Soluzione limpida ed incolore.

IDENTIFICAZIONE

La soluzione dà la reazione caratteristica dello zinco (2.3.1).

SAGGI

pH (2.2.3). Il pH della soluzione è compreso tra 5,0 e 6,0.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Diluire un volume di preparazione in esame, esattamente misurato e corrispondente a circa 25 mg di zinco solfato, con 100 ml di *acqua R*, aggiungere 5 ml di *tampone ammonio cloruro soluzione a pH 10 R* e titolare con *sodio edetato 0,01 M*, utilizzando come indicatore *nero mordente 11 R*.

1 ml di *sodio edetato 0,01 M* equivale a 2,875 mg di ZnSO₄·7H₂O.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

ZINCO SOLFATO COMPRESSE

Le compresse di zinco solfato soddisfano anche ai requisiti definiti nella monografia *Compresse (0478)*.

DEFINIZIONE

Le compresse di zinco solfato contengono *Zinco solfato* in adeguati eccipienti.

Contenuto di zinco solfato ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Compresse bianche, di aspetto uniforme.

IDENTIFICAZIONE

Polverizzare finemente alcune compresse. Agitare una quantità di polvere, corrispondente a circa 1 g di zinco solfato, con 20 ml di *acqua R* e filtrare.

- A. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei solfati (2.3.1).
- B. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dello zinco (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Pesare non meno di 20 compresse e polverizzarle finemente. Sospendere una quantità di polvere, esattamente pesata e corrispondente a 200 mg circa di zinco solfato, in 200 ml di *acqua R*; aggiungere 5 ml di *acido acetico diluito R* ed agitare energicamente e a lungo. Effettuare la titolazione complessometrica dello zinco (2.5.11) titolando con *sodio edetato 0,05 M*.

1 ml di *sodio edetato 0,05 M* equivale a 14,38 mg di $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$.

CONSERVAZIONE

In recipienti non metallici, ben chiusi.

Le compresse contengono 200 mg di zinco solfato.

ZOLFO E ACIDO SALICILICO UNGUENTO

Solfo-salicilico unguento

L'unguento di zolfo e acido salicilico soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia *Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132)*.

DEFINIZIONE

L'unguento di zolfo e acido salicilico ha la seguente composizione:

<i>Zolfo per uso esterno</i>	16 g
<i>Acido salicilico</i>	4 g
<i>Paraffina liquida</i>	10 g
<i>Vaselina bianca q.b. a</i>	100 g

Contenuto di zolfo (S): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di acido salicilico ($C_7H_6O_3$): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento di consistenza pastosa, omogeneo, di colore giallo.

IDENTIFICAZIONE

- A. Trattare a caldo alcuni grammi di preparazione con *alcool R*; raffreddare e filtrare; evaporare l'alcool a b.m., riprendere il residuo con *acqua R* calda. Aggiungere alla soluzione alcune gocce di *ferro(-ico) cloruro soluzione R*: si sviluppa una colorazione rosso-violetta che permane per aggiunta di *acido acetico R* e scompare per aggiunta di *acido cloridrico R*.
- B. Bruciare in capsula di porcellana alcuni grammi di preparazione: si sviluppa una fiamma azzurra con forte odore di anidride solforosa.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Acido salicilico. In una beuta con tappo a smeriglio pesare esattamente 3 g circa di preparazione. Aggiungere 50 ml di *alcool R* tappare ed agitare energicamente fino a ridurre l'unguento in frammenti molto piccoli, per favorire la solubilizzazione dell'acido salicilico. Agitare per 15 min con agitatore magnetico scaldando

a 50-60 °C e quindi lasciare raffreddare. Titolare con *sodio idrossido 0,1 M* usando *rosso fenolo R* come indicatore.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 M* equivale a 13,81 mg di $C_7H_6O_3$.

Zolfo. In una capsula di porcellana da 50 ml pesare esattamente 1 g circa di preparazione, aggiungere 4 g circa di *sodio carbonato R*, 5 ml di *cloroformio R*, mescolare e scaldare a b.m. fino a completa evaporazione del cloroformio. Aggiungere 10 g di *rame nitrato R* in polvere, mescolare e scaldare la miscela su piccola fiamma. Quando la reazione iniziale è quasi finita, aumentare la fiamma fino a che quasi tutta la sostanza è annerita. Lasciare raffreddare, introdurre la capsula in un becher e aggiungere 20 ml di *acido cloridrico R* e, quando la reazione cessa, 100 ml di *acqua R*. Far bollire fino a che l'ossido di rame sia tutto sciolto. Filtrare, lavare il becher e il filtro con *acqua R* fino al volume di 400 ml circa, scaldare di nuovo all'ebollizione, aggiungere 20 ml di *bario cloruro soluzione R1* e lasciare a riposo per 2 h. Filtrare, lavare il precipitato di solfato di bario con *acqua R*, seccare in stufa a 105 °C e calcinare fino a massa costante.

1 g di $BaSO_4$ equivale a 0,1374 g di S.

CONSERVAZIONE

In confezione ben chiusa, al riparo dal calore.

ZOLFO E POTASSIO CARBONATO UNGUENTO

Solfo-alcalino unguento

L'unguento di zolfo e potassio carbonato soddisfa anche ai requisiti definiti nella monografia Preparazioni semisolidi per applicazione cutanea (0132).

DEFINIZIONE

L'unguento di zolfo e potassio carbonato ha la seguente composizione:

<i>Zolfo per uso esterno</i>	17 g
<i>Potassio carbonato</i>	8 g
<i>Vaselina bianca q.b. a</i>	100 g

Contenuto di zolfo (S): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

Contenuto di potassio carbonato (K_2CO_3): non meno del 90,0 per cento e non più del 110,0 per cento della quantità indicata in etichetta.

CARATTERI

Unguento di colore giallo, omogeneo, di consistenza pastosa.

IDENTIFICAZIONE

- Bruciare 2 o 3 g di preparazione in capsula di porcellana: si ottiene una fiamma azzurra con forte odore di anidride solforosa.
- Fondere 2 o 3 g di preparazione a b.m. in 10 ml di *acqua depurata R*, raffreddare e filtrare. Il filtrato dà le reazioni caratteristiche dei carbonati (2.3.1).
- Evaporare a secco 3 o 4 ml del filtrato ottenuto nel saggio di identificazione B: il residuo dà le reazioni caratteristiche del potassio (2.3.1).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Zolfo. Pesare esattamente, in capsula di porcellana da 50 ml, 1 g circa di preparazione. Aggiungere 4 g di *sodio carbonato R* e 5 ml di *cloroformio R*, mescolare e scaldare a b.m. fino a completa evaporazione del cloroformio. Aggiungere 10 g di *rame nitrato R* in polvere, mescolare e scaldare la miscela su piccola fiamma; quando la reazione iniziale è quasi finita aumentare la fiamma fino a che tutta la sostanza è annerita. Lasciar raffreddare e introdurre la capsula in un becher, aggiungere cautamente 20 ml di *acido cloridrico R* e, quando termina la reazione, 100 ml di *acqua R* e far bollire fino a che l'ossido di rame è tutto disciolto. Filtrare, lavare becher e filtro con *acqua R* fino al volume di 400 ml circa; scaldare di nuovo all'ebollizione, aggiungere 20 ml di *bario cloruro soluzione R1* e lasciare a riposo per 2 h. Filtrare, lavare il precipitato di solfato di bario con *acqua R*, essiccare in stufa a 105 °C e calcinare fino a massa costante. Calcolare il contenuto percentuale di S.

1 g di $BaSO_4$ equivale a 0,1374 g di S.

Potassio carbonato. Riscaldare 10 g circa di unguento, esattamente pesati, a b.m. con 50 ml di *acqua depurata R*, raffreddare e filtrare; ripetere l'operazione altre due volte sempre con 50 ml di *acqua depurata R*. Riunire gli estratti acquosi e titolare con *acido cloridrico 1 M*, utilizzando come indicatore *metilarancio R*.

1 ml di *acido cloridrico 1 M* equivale a 69,1 mg di K_2CO_3 .

CONSERVAZIONE

In contenitore ben chiuso, al riparo dal calore.

Preparazioni omeopatiche

Introduzione	1329	Droghe vegetali per preparazioni omeopatiche	1331
Preparazioni omeopatiche	1330	Metodi di preparazione di materiali di partenza omeopatici e diluizioni	1333
Tinture madri per preparazioni omeopatiche	1330		

INTRODUZIONE

Tutti i testi generali e le altre monografie della Farmacopea Europea che hanno una rilevanza con l'omeopatia possono trovare applicazione.

Il capitolo "Omeopatia" della Farmacopea Europea contiene le monografie generali e le singole monografie che descrivono le materie prime e le preparazioni usate quasi esclusivamente per i medicinali omeopatici. Il riferimento a queste monografie per altri scopi può essere autorizzato dalle autorità di registrazione.

1038

PREPARAZIONI OMEOPATICHE

Praeparationes homoeopathicae

DEFINIZIONE

Le preparazioni omeopatiche sono ottenute da sostanze, prodotti o preparazioni chiamate "materiali di partenza"¹, in accordo con un procedimento di produzione omeopatico. Una preparazione omeopatica è generalmente indicata con il nome latino del materiale di partenza, seguito dall'indicazione del grado di diluizione.

Materie prime

Le materie prime utilizzate per la produzione delle preparazioni omeopatiche possono essere di origine naturale o sintetica.

Per le materie prime di origine umana o animale devono essere adottate adeguate misure per minimizzare nelle preparazioni omeopatiche il rischio di agenti di infezione inclusi i virus (5.1.7). A questo scopo deve essere dimostrato che:

- il metodo di produzione preveda una o più fasi che hanno dimostrato di essere in grado di eliminare o inattivare gli agenti di infezione,
- se del caso, i materiali di origine animale soddisfano la monografia *Prodotti aventi il rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali* (1483),

- se del caso, gli animali e i tessuti usati per ottenere le materie prime soddisfano ai requisiti sanitari dell'autorità competente per gli animali destinati al consumo umano,
- per le materie di origine umana, i donatori seguono le raccomandazioni applicabili ai donatori di sangue umano e al sangue donato (vedere *Plasma umano per frazionamento* (0853)), se non diversamente giustificato ed autorizzato.

Le materie prime di origine vegetale, animale o umana possono essere utilizzate allo stato fresco o essiccato. Nei casi appropriati le materie prime utilizzate allo stato fresco possono essere conservate congelate.

Materie prime di origine vegetale soddisfano a quanto prescritto nella monografia *Droghe vegetali per preparazioni omeopatiche* (2045).

Nei casi giustificati e autorizzati per il trasporto o l'immagazzinamento, le materie prime utilizzate allo stato fresco possono essere conservate in etanolo (96 per cento V/V) o in etanolo di una adeguata concentrazione a condizione che tutta la materia prima incluso il mezzo di conservazione siano utilizzati nella produzione.

Le materie prime devono soddisfare a tutti i requisiti delle monografie della Farmacopea.

Veicoli

I veicoli sono eccipienti utilizzati per la preparazione di alcuni materiali di partenza o per processi di potenziamento (o dinamizzazione). Comprendono ad esempio acqua depurata, alcool di titolo appropriato, glicerolo e lattosio.

I veicoli devono soddisfare a tutti i requisiti delle monografie della Farmacopea.

Materiali di partenza¹

I materiali di partenza sono sostanze, prodotti o preparazioni che servono come materiale iniziale per la produzione di preparazioni omeopatiche.

Il materiale di partenza è generalmente costituito da: una tintura madre o un macerato glicerico nel caso di materie prime di origine vegetale, animale o umana, o la sostanza stessa nel caso di materie prime di origine chimica o minerale.

Le tinture madri soddisfano a quanto prescritto nella monografia *Tinture madri per preparazioni omeopatiche* (2029).

1. Denominati anche «ceppi omeopatici». Nel testo inglese il termine è «stocks» mentre in quello francese è «souches».

I macerati glicerici sono preparazioni liquide ottenute da materie prime di origine vegetale, animale o umana utilizzando glicerolo o una miscela di glicerolo e alcool di titolo appropriato o una miscela di glicerolo e una soluzione di sodio cloruro a concentrazione appropriata.

Diluizioni

Le diluizioni e le triturazioni sono ottenute dal materiale di partenza mediante un processo di potenziamento (o dinamizzazione) in accordo con un metodo di produzione di preparazioni omeopatiche: ciò significa diluizioni successive ed agitazioni (sbattimenti); o triturazioni successive appropriate, o una combinazione dei due processi.

Le operazioni di potenziamento comprendono generalmente uno dei seguenti passaggi:

- 1 parte di materiale di partenza e 9 parti di veicolo; essi possono essere designati con “D”, “DH” o “X” (decimali),
- 1 parte di materiale di partenza e 99 parti di veicolo; essi possono essere designati con “C” o “CH” (centesimali).

Il numero delle operazioni di potenziamento definisce il grado di diluizione: per esempio, “D3”, “3DH” o “3X” significa tre diluizioni decimali successive e “C3”, “3CH” o “3C” significa tre diluizioni centesimali successive.

Le potenze “LM-” (o “Q-”) sono preparate secondo un procedimento specifico.

Forme farmaceutiche

Una forma farmaceutica di una preparazione per uso omeopatico soddisfa a qualunque pertinente monografia sulle forme farmaceutiche presenti nella Farmacopea e con quanto segue:

- ai fini delle forme farmaceutiche per uso omeopatico sono considerate “sostanze attive” le diluizioni o triturazioni di materiali di partenza omeopatici,
- queste forme farmaceutiche sono preparate usando eccipienti adatti,
- il saggio per l’uniformità del contenuto di solito non è appropriato. Comunque, in alcune circostanze, è richiesto.

Forme farmaceutiche omeopatiche “pillole”

Le pillole per uso omeopatico sono preparazioni di consistenza solida ottenute dallo zucchero, dal lattosio o da altri eccipienti idonei. Possono essere preparate impregnando pillole preformate con una o più diluizioni dei materiali di partenza omeopatici o mediante aggiunta progressiva di questi eccipienti e aggiunta di una o più diluizioni dei materiali di partenza omeopatici. Si intendono per uso orale o sublinguale.

Forme farmaceutiche omeopatiche “compresse”

Le compresse per uso omeopatico sono preparazioni ottenute dallo zucchero, dal lattosio o da altri eccipienti idonei in accordo alla monografia *Compresse (0478)*. Possono essere preparate sia mediante compressione di una o più sostanze attive solidali con gli eccipienti o mediante impregnazione di compresse preformate con una o più diluizioni di materiali di partenza omeopatici. Le compresse preformate per impregnazione sono ottenute dallo zucchero, dal lattosio o da altri eccipienti idonei in accordo alla monografia *Compresse (0478)*. Si intendono per uso orale o sublinguale.

2029

TINTURE MADRI PER PREPARAZIONI OMEOPATICHE

Tincturae maternae ad
preparationes homoeopathicas

DEFINIZIONE

Le tinture madri per preparazioni omeopatiche sono preparazioni liquide ottenute mediante l’azione solvente di un appropriato veicolo su materie prime. Le materie prime generalmente fresche possono essere anche essiccate. Esse possono essere ottenute anche da succhi di piante con o senza l’aggiunta di un veicolo. Per alcune preparazioni il materiale da estrarre può subire un trattamento preliminare.

PRODUZIONE

Le tinture madri per preparazioni omeopatiche sono generalmente preparate per macerazione, digestione, infusione, decozione, fermentazione o come descritto nella specifica monografia, generalmente usando alcool con concentrazione appropriata.

Le tinture madri per preparazioni omeopatiche sono ottenute usando una proporzione fissa di materia prima e di solvente considerando il contenuto di umidità della materia prima se non giustificato e autorizzato. Se vengono utilizzate piante fresche, debbono essere utilizzati procedimenti adatti ad assicurare la freschezza. Le autorità competenti possono richiedere la dimostrazione della freschezza con un metodo appropriato. Le tinture madri per preparazioni omeopatiche sono generalmente limpide. A riposo può formarsi un sedimento leggero e questo è accettabile purché la composizione della tintura non sia cambiata significativamente.

Il processo di produzione è definito in modo tale da essere riproducibile.

Produzione mediante macerazione. Se non diversamente prescritto, ridurre il materiale da estrarre in parti di dimensioni appropriate, mescolare accuratamente con il solvente di estrazione prescritto e lasciare a riposo in un recipiente chiuso per un tempo prestabilito. Separare il residuo dal solvente di estrazione e, se necessario, pressarlo. In quest'ultimo caso riunire i due liquidi.

Correzione dei contenuti. Se necessario la correzione del contenuto dei costituenti può essere effettuata sia aggiungendo il solvente di estrazione ad una concentrazione appropriata, sia aggiungendo un'altra tintura madre per preparazioni omeopatiche del materiale vegetale o animale usato per la preparazione.

IDENTIFICAZIONE

Se applicabile effettuare almeno un saggio cromatografico di identificazione.

SAGGI

I limiti di una specifica monografia sono posti includendo i metodi ufficiali di produzione.

Limiti specifici si applicano a ciascun metodo di produzione definito.

Se viene effettuato il saggio per la densità relativa, il saggio per l'etanolo non deve essere fatto, e viceversa.

Densità relativa (2.2.5). La tintura madre per preparazioni omeopatiche soddisfa ai limiti prescritti nella monografia.

Etanolo (2.9.10). Il contenuto di etanolo soddisfa con quanto prescritto nella monografia.

Metanolo e 2-propanolo (2.9.11). Non più dello 0,05 per cento V/V di metanolo e non più dello 0,05 per cento V/V di 2-propanolo, se non diversamente prescritto.

Residuo secco (2.8.16). Se del caso, la tintura madre per preparazioni omeopatiche soddisfa ai limiti prescritti nella monografia.

Pesticidi (2.8.13). Se del caso, la tintura madre per preparazioni omeopatiche soddisfa con il saggio. Questo requisito è realizzato se la droga vegetale ha dimostrato di soddisfare al saggio.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Se del caso, effettuare un dosaggio con limiti quantitativi.

CONSERVAZIONE

Conservare al riparo dalla luce. Può essere specificata una temperatura massima di conservazione.

ETICHETTE

L'etichetta indica:

- che il prodotto è una tintura madre per preparazioni omeopatiche (indicata come “TM” o “Ø”),
- il nome della materia prima usando il nome latino della Farmacopea europea quando esiste la monografia,
- il metodo di preparazione,
- la concentrazione dell'alcool o del solvente nella tintura finale in percentuale V/V ,
- il rapporto materia prima/tintura madre,
- se del caso, le condizioni di conservazione.

2045

DROGHE VEGETALI PER PREPARAZIONI OMEOPATICHE

Plantae medicinales ad preparationes homoeopathicae

DEFINIZIONE

Le droghe vegetali per preparazioni omeopatiche sono principalmente piante intere, frammentate o tagliate, parti di piante incluse alghe, funghi o licheni in uno stato non trattato, generalmente allo stato fresco. Lo stato nel quale la droga viene utilizzata, fresco o secco, è definito nella specifica monografia della Farmacopea Europea o, in sua assenza, nella specifica monografia di una farmacopea nazionale. In assenza di una monografia, deve essere definito lo stato in cui la droga vegetale viene utilizzata.

Sono anche considerati droghe vegetali per preparazioni omeopatiche alcuni essudati che non hanno subito trattamenti specifici. Le droghe vegetali per preparazioni omeopatiche sono definite con precisione dal nome scientifico botanico della specie di origine secondo il sistema binomiale (genere, specie, varietà ed autore).

PRODUZIONE

Le droghe vegetali per preparazioni omeopatiche sono ottenute da piante coltivate o selvatiche. La qualità della droga vegetale per preparazioni omeopatiche è garantita da appropriate procedure di campionamento, coltivazione, raccolta, essiccamento, frammentazione e condizioni di conservazione.

Le droghe vegetali per preparazioni omeopatiche sono, per quanto possibile, esenti da impurezze come terra, polvere, sporcizia ed altri contaminanti (per esempio contaminazione fungina, insetti o altre contaminazioni animali). Esse non devono essere in decomposizione.

Se è stato usato un trattamento di decontaminazione è necessario dimostrare che i costituenti della pianta non siano stati influenzati da tale trattamento e che non siano rimasti residui nocivi. Per la decontaminazione delle droghe vegetali per preparazioni omeopatiche è proibito l'uso di ossido di etilene.

Le droghe vegetali allo stato fresco devono essere processate il più rapidamente possibile dopo il loro raccolto. Quando giustificato e autorizzato possono essere congelate per il trasporto e la conservazione; possono anche essere conservate in etanolo (96 per cento *V/V*) o in etanolo ad una adatta concentrazione, sempre che la totalità della materia prima incluso il mezzo di conservazione, sia usato per la produzione.

Adeguate misure debbono essere prese per assicurare che la qualità microbiologica delle preparazioni omeopatiche costituite da una o da più droghe vegetali soddisfi alle raccomandazioni riportate nel testo *Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche* (5.1.4).

IDENTIFICAZIONE

Le droghe vegetali per preparazioni omeopatiche sono identificate mediante le loro descrizioni macroscopiche e microscopiche e con qualunque altro saggio che possa essere richiesto (per esempio, cromatografia su strato sottile).

SAGGI

Quando si usa una pianta fresca come materiale di partenza per la produzione di preparazioni omeopatiche, il contenuto di elementi estranei deve essere il più basso possibile; se necessario il contenuto massimo di elementi estranei è indicato nella specifica monografia.

Quando si usa una pianta essiccata come materiale di partenza per la produzione di preparazioni omeopatiche si effettua il saggio per gli elementi estranei (2.8.2), se non diversamente prescritto nella specifica monografia.

Alle droghe vegetali per preparazioni omeopatiche che possono essere adulterate, si può applicare un adeguato saggio specifico.

Nei casi appropriati, le droghe vegetali per preparazioni omeopatiche soddisfano ad altri saggi, per esempio, ceneri totali (2.4.16), indice di amarezza (2.8.15).

Sulle droghe vegetali per preparazioni omeopatiche essiccate si effettua il saggio per la perdita all'essiccamento (2.2.32). Il contenuto di acqua delle droghe vegetali fresche per preparazioni omeopatiche può essere determinato con un metodo appropriato. Sulle droghe vegetali per preparazioni omeopatiche con un alto contenuto di essenza si effettua la determinazione dell'acqua (2.2.13).

Le droghe vegetali per preparazioni omeopatiche soddisfano ai requisiti per i residui di pesticidi (2.8.13). I requisiti tengono in considerazione la natura della pianta, quando necessario la preparazione nella quale la pianta potrebbe essere utilizzata e, se disponibile, la conoscenza della completa documentazione del trattamento del lotto della pianta. Il contenuto dei residui di pesticidi può essere determinato con il metodo descritto nell'allegato al metodo generale.

Deve essere considerato il rischio di contaminazione da metalli pesanti delle droghe vegetali per preparazioni omeopatiche. Se una singola monografia non prescrive limiti per metalli pesanti o elementi chimici specifici, tali limiti, se giustificato, possono essere richiesti.

Quando necessario, possono essere richiesti i limiti per le aflatossine.

In alcune circostanze specifiche si deve considerare il rischio della contaminazione radioattiva.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Se del caso, la determinazione quantitativa delle droghe vegetali per preparazioni omeopatiche viene effettuata utilizzando un metodo appropriato.

CONSERVAZIONE

Le droghe vegetali essiccate devono essere protette dalla luce.

**METODI DI PREPARAZIONE
DI MATERIALI DI PARTENZA
OMEOPATICI E DILUIZIONI**

Via praeparandi stirpes
homoeopathicas et potentificandi

I materiali di partenza omeopatici si preparano a partire da materie prime che soddisfano ai requisiti della monografia *Preparazioni omeopatiche (1038)*, utilizzando metodi appropriati. I metodi descritti di seguito, combinati a definiti metodi di diluizione (ovvero di potenziamento o dinamizzazione), sono riportati come esempi, tuttavia l'impiego di altri metodi descritti in una farmacopea ufficiale nazionale di uno degli Stati Membri può essere egualmente ammesso.

Quando sono utilizzati materiali di origine animale, si deve fare particolare riferimento ai requisiti riguardanti l'uso di materie prime di origine animale o umana come riportati nella monografia *Preparazioni omeopatiche (1038)*.

Per la preparazione di diluizioni liquide, l'etanolo alla concentrazione prescritta nel metodo può, se necessario, essere sostituito da etanolo al 30 per cento *m/m* (36 per cento *V/V*) o da etanolo al 15 per cento *m/m* (18 per cento *V/V*).

Quando la specifica monografia consente la preparazione della tintura madre a partire da più specie di una stessa pianta, la tintura madre si può preparare a partire da parti specifiche di una di queste specie o da una miscela di tali specie.

Salvo indicazione diversa, le tinture madri si preparano per macerazione. La macerazione dura da un minimo di 10 giorni a un massimo di 30 giorni.

La macerazione può essere sostituita da una macerazione lunga (massimo 60 giorni) o molto lunga (massimo 180 giorni), a condizione che sia dimostrato che la qualità di tintura madre risultante sia la stessa di quella della tintura madre preparata per macerazione.

Salvo indicazione diversa nella specifica monografia, il termine "parte(i)" indica "parte(i) in massa". Salvo indicazione diversa nel metodo, la massima temperatura per la preparazione è di 25 °C.

METODO 1a

Il metodo 1a si utilizza per le droghe vegetali fresche contenenti generalmente più del 70 per cento di succo da spremitura e non contenente essenze o resine o mucillagini. Le tinture madri preparate con il metodo 1a sono miscele di parti uguali di succo da spremitura e di etanolo 86 per cento *m/m* (90 per cento *V/V*). Spremere la droga vegetale adeguatamente sminuzzata e miscelare immediatamente il succo spremuto con una uguale massa di etanolo 86 per cento *m/m* (90 per cento *V/V*). Lasciare a riposo in recipiente chiuso non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, poi filtrare.

Correzione dei contenuti prescritti nella specifica monografia

Sul filtrato ottenuto, determinare la percentuale di residuo secco (2.8.16) o, se prescritto, la percentuale del componente determinato quantitativamente. Calcolare la quantità (A_f), in chilogrammi, di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*) necessaria, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa del filtrato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel filtrato.

Miscelare il filtrato con la quantità calcolata di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*). Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La 1^a diluizione "decimale" (D1) si prepara con:

2 parti di tintura madre,

8 parti di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione "decimale",

9 parti di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*).

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2.

La 1^a diluizione "centesimale" (C1) si prepara con:

2 parti di tintura madre,

Metodi di preparazione di materiali di partenza omeopatici e diluizioni

98 parti di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*).

La 2^a diluizione centesimale (C2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “centesimale”,

99 parti di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*).

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per C2.

METODO 1b

Il metodo 1b si utilizza per trattare il lattice delle droghe vegetali.

Le tinture madri preparate con il metodo 1b sono miscele di lattice di piante fresche con etanolo al 30 per cento *m/m* (36 per cento *V/V*).

Miscelare il lattice fresco con 2 parti di etanolo al 30 per cento *m/m* (36 per cento *V/V*), filtrare.

Correzione dei contenuti prescritti nella specifica monografia

Sul filtrato ottenuto determinare la percentuale di residuo secco (2.8.16) o, se prescritto, la percentuale del componente determinato quantitativamente. Calcolare la quantità (A_1), in chilogrammi, di etanolo al 30 per cento *m/m* (36 per cento *V/V*) necessaria, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa del filtrato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel filtrato.

Miscelare il filtrato con la quantità calcolata di etanolo 30 per cento *m/m* (36 per cento *V/V*). Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore a 20 °C, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La 1^a diluizione “decimale” (D1) si prepara con:

3 parti di tintura madre,

7 parti di etanolo al 30 per cento *m/m* (36 per cento *V/V*).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “decimale”,

9 parti di etanolo al 15 per cento *m/m* (18 per cento *V/V*).

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2.

METODO 2a

Il metodo 2a si utilizza per droghe vegetali fresche contenenti generalmente meno del 70 per cento di succo da spremitura e più del 60 per cento di umidità (perdita all'essiccamento), e non contenenti essenze o resine.

Le tinture madri preparate con il metodo 2a (contenuto di etanolo di circa il 43 per cento *m/m* o 50 per cento *V/V*) si preparano per macerazione come descritto di seguito.

Sminuzzare convenientemente la droga vegetale. Prelevare un campione e determinare la perdita all'essiccamento (2.2.32). Salvo diversa indicazione, effettuare questa determinazione su 2,00–5,00 g di materia prima sminuzzata, in un recipiente tarato a fondo piatto con un diametro di 45-55 mm, precedentemente seccato secondo il procedimento indicato per la materia prima. Essiccare la materia prima a 100-105 °C per 2 ore, poi lasciar raffreddare in un essiccatore.

Aggiungere alla droga vegetale, immediatamente dopo essere stata sminuzzata, una quantità di etanolo all'86 per cento *m/m* (90 per cento *V/V*) non inferiore alla metà della sua massa e conservare in un contenitore ben chiuso ad una temperatura non superiore ai 20 °C.

Calcolare, utilizzando la seguente espressione, la quantità (A_2), in chilogrammi, di etanolo 86 per cento *m/m* (90 per cento *V/V*) necessaria per la massa m di materia prima, poi sottrarre la quantità di etanolo 86 per cento *m/m* (90 per cento *V/V*) già aggiunta e aggiungere la differenza alla miscela.

$$\frac{m \times T}{100}$$

m = massa di materia prima, in chilogrammi,

T = per cento di perdita per essiccamento del campione.

Lasciare a riposo per non meno di 10 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, agitando di tanto in tanto, poi spremere la miscela e filtrare il liquido spremuto.

Correzione dei contenuti prescritti nella specifica monografia

Sul filtrato ottenuto, determinare la percentuale di residuo secco (2.8.16) o, se prescritto, la percentuale del componente determinato quantitativamente. Calcolare

la quantità (A_1), in chilogrammi, di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V) necessaria, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa del filtrato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel filtrato.

Miscelare il filtrato con la quantità calcolata di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V). Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La 1^a diluizione “decimale” (D1) si prepara con:

2 parti di tintura madre,

8 parti di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “decimale”,

9 parti di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V).

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2.

La 1^a diluizione “centesimale” (C1) si prepara con:

2 parti di tintura madre,

98 parti di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V).

La 2^a diluizione centesimale (C2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “centesimale”,

99 parti di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V).

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per C2.

METODO 2b

Il metodo 2b si utilizza per droghe vegetali fresche contenenti generalmente meno del 70 per cento di succo da spremitura e più del 60 per cento di umidità (perdita all'essiccamento), e non contenenti essenze o resine.

Le tinture madri preparate con il metodo 2b (contenuto di etanolo di circa il 30 per cento m/m o 36 per cento V/V) si preparano per macerazione come descritto di seguito.

Sminuzzare convenientemente la droga vegetale. Prelevare un campione e determinare la perdita all'essiccamento (2.2.32). Salvo diversa indicazione, effettuare questa determinazione su 2,00–5,00 g di materia prima sminuzzata, in un recipiente tarato a fondo piatto con un diametro di 45-55 mm, precedentemente seccato secondo il procedimento indicato per la materia prima. Essiccare la materia prima a 100-105 °C per 2 ore, poi lasciar raffreddare in un essiccatore.

Aggiungere alla droga vegetale, immediatamente dopo essere stata sminuzzata, una quantità di etanolo al 62 per cento m/m (70 per cento V/V) non inferiore alla metà della sua massa e conservare in un contenitore ben chiuso ad una temperatura non superiore ai 20 °C.

Calcolare, utilizzando la seguente espressione, la quantità (A_2), in chilogrammi, di etanolo 62 per cento m/m (70 per cento V/V) necessario per la massa m di materia prima, poi sottrarre la quantità di etanolo 62 per cento m/m (70 per cento V/V) già aggiunta e aggiungere la differenza alla miscela.

$$\frac{m \times T}{100}$$

m = massa di materia prima, in chilogrammi,

T = perdita per essiccamento del campione, in percentuale.

Lasciare a riposo per non meno di 10 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 C, agitando di tanto in tanto, poi spremere la miscela e filtrare il liquido spremuto.

Correzione dei contenuti prescritti nella specifica monografia

Sul filtrato ottenuto, determinare la percentuale di residuo secco (2.8.16) o, se prescritto, la percentuale del componente determinato quantitativamente. Calcolare la quantità (A_1), in chilogrammi, di etanolo al 30 per cento m/m (36 per cento V/V) necessaria, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa del filtrato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel filtrato.

Metodi di preparazione di materiali di partenza omeopatici e diluizioni

Miscelare il filtrato con la quantità calcolata di etanolo al 30 per cento m/m (36 per cento V/V). Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La 1^a diluizione “decimale” (D1) si prepara con:

2 parti di tintura madre,

8 parti di etanolo al 30 per cento m/m (36 per cento V/V).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “decimale”,

9 parti di etanolo al 15 per cento m/m (18 per cento V/V).

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2.

METODO 3a

Il metodo 3a si utilizza per droghe vegetali fresche contenenti una essenza o una resina, o generalmente meno del 60 per cento di umidità (perdita all'essiccamento).

Le tinte madri preparate con il metodo 3a (contenuto di etanolo circa il 60 per cento m/m o 68 per cento V/V) si preparano per macerazione come descritto di seguito.

Sminuzzare convenientemente la droga vegetale. Prelevare un campione e determinare la perdita all'essiccamento (2.2.32). Salvo diversa indicazione, effettuare questa determinazione su 2,00–5,00 g di materia prima sminuzzata, in un recipiente tarato a fondo piatto con un diametro di 45-55 mm, precedentemente seccato secondo il procedimento indicato per la materia prima. Essiccare la materia prima a 100-105 °C per 2 ore, poi lasciar raffreddare in un essiccatore.

Aggiungere alla droga vegetale, immediatamente dopo essere stata sminuzzata, una quantità di etanolo all'86 per cento m/m (90 per cento V/V) non inferiore alla metà della sua massa e conservare in un contenitore ben chiuso ad una temperatura non superiore ai 20 °C.

Calcolare, utilizzando la seguente espressione, la quantità (A_2), in chilogrammi, di etanolo 86 per cento m/m (90 per cento V/V) necessaria per la massa m di materia prima, poi sottrarre la quantità di etanolo 86 per cento m/m (90 per cento V/V) già aggiunta e aggiungere la differenza alla miscela.

$$\frac{2 \times m \times T}{100}$$

m = massa di materia prima, in chilogrammi,

T = perdita per essiccamento del campione, in percentuale.

Lasciare a riposo per non meno di 10 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, agitando di tanto in tanto, poi spremere la miscela e filtrare il liquido spremuto.

Correzione dei contenuti prescritti nella specifica monografia

Sul filtrato ottenuto, determinare la percentuale di residuo secco (2.8.16) o, se prescritto, la percentuale del componente determinato quantitativamente. Calcolare la quantità (A_1), in chilogrammi, di etanolo al 62 per cento m/m (70 per cento V/V) necessaria, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa del filtrato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel filtrato.

Miscelare il filtrato con la quantità calcolata di etanolo al 62 per cento m/m (70 per cento V/V). Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La 1^a diluizione “decimale” (D1) si prepara con:

3 parti di tintura madre,

7 parti di etanolo al 62 per cento m/m (70 per cento V/V).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “decimale”,

9 parti di etanolo al 62 per cento m/m (70 per cento V/V).

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2. Utilizzare etanolo 43 per cento m/m (50 per cento V/V) per diluizioni a partire da D4.

La 1^a diluizione “centesimale” (C1) si prepara con:

3 parti di tintura madre,

97 parti di etanolo al 62 per cento m/m (70 per cento V/V).

La 2^a diluizione centesimale (C2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “centesimale”,

99 parti di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V).

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per C2.

METODO 3b

Il metodo 3b si utilizza per droghe vegetali fresche contenenti una essenza o una resina, o generalmente meno del 60 per cento di umidità (perdita all'essiccamento).

Le tinture madri preparate con il metodo 3b (contenuto di etanolo circa il 43 per cento m/m o 50 per cento V/V) si preparano per macerazione come descritto di seguito.

Sminuzzare convenientemente la droga vegetale. Prelevare un campione e determinare la perdita all'essiccamento (2.2.32). Salvo diversa indicazione, effettuare questa determinazione su 2,00–5,00 g di materia prima sminuzzata, in un recipiente tarato a fondo piatto con un diametro di 45-55 mm, precedentemente seccato secondo il procedimento indicato per la materia prima. Essiccare la materia prima a 100-105 °C per 2 ore, poi lasciar raffreddare in un essiccatore.

Aggiungere alla droga vegetale, immediatamente dopo essere stata sminuzzata, una quantità di etanolo al 73 per cento m/m (80 per cento V/V) non inferiore alla metà della sua massa e conservare in un contenitore ben chiuso ad una temperatura non superiore ai 20 °C.

Calcolare, utilizzando la seguente espressione, la quantità (A_3), in chilogrammi, di etanolo 73 per cento m/m (80 per cento V/V) necessario per la massa m di materia prima, poi sottrarre la quantità di etanolo 73 per cento m/m (80 per cento V/V) già aggiunta e aggiungere la differenza alla miscela.

$$\frac{2 \times m \times T}{100}$$

m = massa di materia prima, in chilogrammi,

T = perdita per essiccamento del campione, in percentuale.

Lasciare a riposo per non meno di 10 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, agitando di tanto in tanto, poi spremere la miscela e filtrare il liquido spremuto.

Correzione dei contenuti prescritti nella specifica monografia

Sul filtrato ottenuto, determinare la percentuale di residuo secco (2.8.16) o, se prescritto, la percentuale del componente determinato quantitativamente. Calcolare

la quantità (A_1), in chilogrammi, di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V) necessaria, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa del filtrato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel filtrato.

Miscelare il filtrato con la quantità calcolata di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V). Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La 1^a diluizione “decimale” (D1) si prepara con:

3 parti di tintura madre,

7 parti di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “decimale”,

9 parti di etanolo al 30 per cento m/m (36 per cento V/V).

La 3^a diluizione decimale (D3) si prepara con:

1 parte della 2^a diluizione decimale,

9 parti di etanolo al 15 per cento m/m (19 per cento V/V).

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per D3.

METODO 3c

Il metodo 3c si utilizza per droghe vegetali fresche contenenti generalmente meno del 60 per cento di umidità (perdita all'essiccamento).

Le tinture madri preparate con il metodo 3c (contenuto di etanolo circa il 30 per cento m/m o 36 per cento V/V) si preparano per macerazione come descritto di seguito.

Sminuzzare convenientemente la droga vegetale. Prelevare un campione e determinare la perdita all'essiccamento (2.2.32). Salvo diversa indicazione, effettuare questa determinazione su 2,00–5,00 g di materia prima sminuzzata, in un recipiente tarato a fondo piatto con un diametro di 45-55 mm, precedentemente seccato secondo il procedimento indicato per la materia prima. Essiccare la materia prima a 100-105 °C per 2 ore, poi lasciar raffreddare in un essiccatore.

Aggiungere alla droga vegetale, immediatamente dopo essere stata sminuzzata, una quantità di etanolo al 43 per cento m/m (50 per cento V/V) non inferiore alla metà della sua massa e conservare in un contenitore ben chiuso ad una temperatura non superiore ai 20 °C.

Calcolare, utilizzando la seguente espressione, la quantità (A_3), in chilogrammi, di etanolo 43 per cento m/m (50 per cento V/V) necessaria per la massa m di materia prima, poi sottrarre la quantità di etanolo 43 per cento m/m (50 per cento V/V) già aggiunta e aggiungere la differenza alla miscela.

$$\frac{2 \times m \times T}{100}$$

m = massa di materia prima, in chilogrammi,

T = perdita per essiccamento del campione, in percentuale.

Lasciare a riposo per non meno di 10 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, agitando di tanto in tanto, poi spremere la miscela e filtrare il liquido spremuto.

Correzione dei contenuti prescritti nella specifica monografia

Sul filtrato ottenuto, determinare la percentuale di residuo secco (2.8.16) o, se prescritto, la percentuale del componente determinato quantitativamente. Calcolare la quantità (A_1), in chilogrammi, di etanolo al 30 per cento m/m (30 per cento V/V) necessaria, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa del filtrato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel filtrato.

Miscelare il filtrato con la quantità calcolata di etanolo al 30 per cento m/m (36 per cento V/V). Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni ad una temperatura non superiore ai 20 °C, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La 1^a diluizione “decimale” (D1) si prepara con:

3 parti di tintura madre,

7 parti di etanolo al 30 per cento m/m (36 per cento V/V).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “decimale”,

9 parti di etanolo al 15 per cento m/m (18 per cento V/V).

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2.

METODO 4a

Il metodo 4a è generalmente utilizzato per le droghe vegetali essiccate.

Le tinture madri preparate secondo il metodo 4a sono ottenute per macerazione o percolazione come descritto di seguito, utilizzando 1 parte di droga vegetale essiccata e 10 parti di etanolo di concentrazione appropriata (anidro, 94 per cento m/m 96 per cento V/V , 86 per cento m/m 90 per cento V/V , 73 per cento m/m 80 per cento V/V , 62 per cento m/m 70 per cento V/V , 43 per cento m/m 50 per cento V/V , 30 per cento m/m 36 per cento V/V , 15 per cento m/m 18 per cento V/V), se non diversamente prescritto nella specifica monografia.

Produzione per macerazione. Salvo indicazioni contrarie, sminuzzare convenientemente la droga vegetale, miscelarla accuratamente con etanolo di concentrazione appropriata e lasciar riposare in un contenitore chiuso per un tempo appropriato. Separare il residuo dall'etanolo e, se necessario, pressare per spremere il liquido e riunire i 2 liquidi ottenuti.

Produzione per percolazione. Se necessario, sminuzzare convenientemente la droga vegetale. Miscelarla accuratamente con etanolo di concentrazione appropriata e lasciar riposare in un contenitore chiuso per un tempo appropriato. Trasferire ad un percolatore e lasciar percolare lentamente a temperatura ambiente assicurandosi che la droga vegetale da estrarre sia sempre coperta con il restante etanolo. Il residuo può essere spremuto ed il liquido spremuto aggiunto al percolato.

Se è necessaria una correzione ad una data concentrazione, calcolare la quantità (A_1), in chilogrammi, di etanolo di concentrazione appropriata, necessaria per ottenere la concentrazione specificata o usata per la produzione, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa di percolato o macerato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel percolato o macerato.

Miscelare il percolato o il macerato con la quantità calcolata di etanolo di concentrazione appropriata. Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La tintura madre corrisponde alla 1^a diluizione decimale ($\emptyset = D1$).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

- 1 parte di tintura madre (D1),
- 9 parti di etanolo della stessa concentrazione.

La 3^a diluizione decimale (D3) si prepara con:

- 1 parte della 2^a diluizione decimale,
- 9 parti di etanolo della stessa concentrazione.

A meno che una diversa concentrazione di etanolo sia specificata, utilizzare etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*) per le successive diluizioni decimali, a partire da D4, e procedere come indicato per D3.

La 1^a diluizione “centesimale” (C1) si prepara con:

- 10 parti di tintura madre (D1),
- 90 parti di etanolo della stessa concentrazione.

La 2^a diluizione centesimale (C2) si prepara con:

- 1 parte della 1^a diluizione “centesimale”,
- 99 parti di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*), a meno che una diversa concentrazione di etanolo sia specificata.

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per C2.

METODO 4b

Il metodo 4b è generalmente utilizzato per materia di origine animale.

Le tinte madri preparate secondo il metodo 4b sono ottenute per macerazione o percolazione come descritto di seguito, utilizzando 1 parte di materia di origine animale essiccata e 10 parti di etanolo di concentrazione appropriata (anidro, 94 per cento *m/m* 96 per cento *V/V*, 86 per cento *m/m* 90 per cento *V/V*, 73 per cento *m/m* 80 per cento *V/V*, 62 per cento *m/m* 70 per cento *V/V*, 43 per cento *m/m* 50 per cento *V/V*, 30 per cento *m/m* 36 per cento *V/V*, 15 per cento *m/m* 18 per cento *V/V*), se non diversamente prescritto nella specifica monografia.

Produzione per macerazione. Salvo indicazioni contrarie, sminuzzare convenientemente la materia di origine animale, miscelare accuratamente con etanolo di concentrazione appropriata e lasciar riposare in un contenitore chiuso per un tempo appropriato. Separare il residuo dall'etanolo e, se necessario, pressare per spremere il liquido e riunire i 2 liquidi ottenuti.

Produzione per percolazione. Se necessario, sminuzzare convenientemente la materia animale. Miscelarla accuratamente con etanolo di concentrazione appropriata e lasciar riposare in un contenitore chiuso per un tempo appropriato. Trasferire ad un percolatore e lasciar percolare lentamente a temperatura ambiente assicurandosi che la materia animale da estrarre sia sempre coperta con il restante etanolo. Il residuo può essere compresso ed il liquido spremuto aggiunto al percolato.

Se è necessaria una correzione ad una data concentrazione, calcolare la quantità (A_I), in chilogrammi, di etanolo di concentrazione appropriata, necessaria per ottenere la concentrazione specificata o usata per la produzione, utilizzando la seguente espressione:

$$\frac{m \times (N_x - N_0)}{N_0}$$

m = massa di percolato o macerato in chilogrammi,

N_0 = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente come prescritto nella specifica monografia,

N_x = percentuale di residuo secco o percentuale del componente determinato quantitativamente nel percolato o macerato.

Miscelare il percolato o il macerato con la quantità calcolata di etanolo di concentrazione appropriata. Lasciare a riposo per non meno di 5 giorni, poi filtrare se necessario.

Diluizioni

La tintura madre corrisponde alla 1^a diluizione decimale ($\emptyset = D1$).

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

- 1 parte di tintura madre (D1),
- 9 parti di etanolo della stessa concentrazione.

La 3^a diluizione decimale (D3) si prepara con:

- 1 parte della 2^a diluizione decimale,
- 9 parti di etanolo della stessa concentrazione.

A meno che una diversa concentrazione di etanolo sia specificata, utilizzare etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*) per le successive diluizioni decimali, a partire da D4, e procedere come indicato per D3.

La 1^a diluizione “centesimale” (C1) si prepara con:

- 10 parti di tintura madre (D1),
- 90 parti di etanolo della stessa concentrazione.

Metodi di preparazione di materiali di partenza omeopatici e diluizioni

La 2^a diluizione centesimale (C2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione “centesimale”,

99 parti di etanolo al 43 per cento *m/m* (50 per cento *V/V*), a meno che una diversa concentrazione di etanolo sia specificata.

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per C2.

METODO 4c

Il metodo 4c è generalmente utilizzato per le droghe vegetali. Lo stato della droga vegetale, fresca o essiccata è specificato nella specifica monografia.

Le tinture madri preparate secondo il metodo 4c sono ottenute per macerazione.

Sminuzzare convenientemente la droga vegetale. Prelevare un campione e determinare la perdita per essiccamento a 100–105 °C per 2 ore (2.2.32) o il contenuto di acqua (2.2.13). Tenendo conto di questo valore, calcolare e aggiungere alla droga vegetale la quantità di etanolo di concentrazione appropriata necessaria per produrre, se non diversamente prescritto, una tintura madre 1 a 10 (tintura madre 1:10) con un appropriato contenuto di etanolo. Lasciar macerare per non meno di 10 giorni con una sufficiente agitazione.

Separare il residuo dall'etanolo e spremere ad una pressione di circa 10⁷ Pa. Mescolare i liquidi ottenuti, lasciare a riposo per 48 h e filtrare. Per le tinture madri per le quali è richiesta la determinazione quantitativa del contenuto, la correzione può essere fatta, se necessario, per aggiunta di etanolo della stessa concentrazione di quello utilizzato per la preparazione della tintura.

Diluizioni

La 1^a diluizione decimale (D1) si prepara con:

1 parte di tintura madre,

9 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione decimale,

9 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2 utilizzando etanolo di concentrazione appropriata.

La 1^a diluizione centesimale (C1) si prepara con:

1 parti di tintura madre,

99 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

La 2^a diluizione centesimale (C2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione centesimale,

99 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per C2 utilizzando etanolo di concentrazione appropriata.

METODO 4d

Il metodo 4d è generalmente utilizzato per le materie prime di origine animale.

Le tinture madri preparate secondo il metodo 4d sono ottenute per macerazione.

Il rapporto in massa della materia prima sulla tintura è generalmente 1 a 20. Alla materia prima convenientemente sminuzzata, aggiungere la quantità di etanolo, di concentrazione appropriata, necessaria a preparare una tintura madre 1 a 20. Lasciar macerare per non meno di 10 giorni con una sufficiente agitazione. Decantare e filtrare. Lasciare a riposo per 48 h e filtrare di nuovo.

Diluizioni

La 1^a diluizione decimale (D1) si prepara con:

1 parte di tintura madre,

9 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

La 2^a diluizione decimale (D2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione decimale,

9 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

Le successive diluizioni decimali si preparano come indicato per D2 utilizzando etanolo di concentrazione appropriata.

La 1^a diluizione centesimale (C1) si prepara con:

1 parti di tintura madre,

99 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

La 2^a diluizione centesimale (C2) si prepara con:

1 parte della 1^a diluizione centesimale,

99 parti di etanolo di concentrazione appropriata.

Le successive diluizioni centesimali si preparano come indicato per C2 utilizzando etanolo di concentrazione appropriata.

TABELLE

TABELLA N. 1

Masse atomiche relative* (massa atomica $^{12}\text{C} = 12$)

Numero Atomico	Nome	Simbolo	Massa atomica relativa	Numero Atomico	Nome	Simbolo	Massa atomica relativa
1	Idrogeno	H	1,0079	53	Iodio	I	126,90447
2	Elio	He	4,00260	54	Xenon	Xe	131,29
3	Litio	Li	6,941	55	Cesio	Cs	132,9054
4	Berillio	Be	9,01218	56	Bario	Ba	137,327
5	Boro	B	10,811	57	Lantanio	La	138,9055
6	Carbonio	C	12,0107	58	Cerio	Ce	140,116
7	Azoto	N	14,0067	59	Praseodimio	Pr	140,90765
8	Ossigeno	O	15,9994	60	Neodimio	Nd	144,24
9	Fluoro	F	18,9984	61	Promezio ^a	Pm	(145)
10	Neon	Ne	20,1797	62	Samario	Sm	150,36
11	Sodio	Na	22,98977	63	Europio	Eu	151,964
12	Magnesio	Mg	24,305	64	Gadolinio	Gd	157,25
13	Alluminio	Al	26,9815	65	Terbio	Tb	158,92534
14	Silicio	Si	28,0855	66	Disprobio	Dy	162,50
15	Fosforo	P	30,9737	67	Olmio	Ho	164,93032
16	Zolfo	S	32,066	68	Erbio	Er	167,26
17	Cloro	Cl	35,4527	69	Tullio	Tm	168,9342
18	Argon	Ar	39,948	70	Itterbio	Yb	173,04
19	Potassio	K	39,0983	71	Lutezio	Lu	174,967
20	Calcio	Ca	40,078	72	Afnio	Hf	178,49
21	Scandio	Sc	44,9559	73	Tantalio	Ta	180,9479
22	Titanio	Ti	47,867	74	Tungsteno	W	183,84
23	Vanadio	V	50,9415	75	Renio	Re	186,207
24	Cromo	Cr	51,9961	76	Osmio	Os	190,23
25	Manganese	Mn	54,9380	77	Iridio	Ir	192,217
26	Ferro	Fe	55,845	78	Platino	Pt	195,078
27	Cobalto	Co	58,9332	79	Oro	Au	196,9665
28	Nichel	Ni	58,6934	80	Mercurio	Hg	200,59
29	Rame	Cu	63,546	81	Tallio	Tl	204,3833
30	Zinco	Zn	65,39	82	Piombo	Pb	207,2
31	Gallio	Ga	69,723	83	Bismuto	Bi	208,98038
32	Germanio	Ge	72,61	84	Polonio ^a	Po	(209)
33	Arsenico	As	74,9216	85	Astato ^a	At	(210)
34	Selenio	Se	78,96	86	Radon ^a	Rn	(222)
35	Bromo	Br	79,904	87	Francio ^a	Fr	(223)
36	Kripton	Kr	83,80	88	Radio ^a	Ra	(226)
37	Rubidio	Rb	85,4678	89	Actinio ^a	Ac	(227)
38	Stronzio	Sr	87,62	90	Torio	Th	232,0381
39	Ittrio	Y	88,9058	91	Protactinio ^a	Pa	231,03588
40	Zirconio	Zr	91,224	92	Uranio ^a	U	238,0289
41	Niobio	Nb	92,90638	93	Nettunio ^a	Np	(237)
42	Molibdeno	Mo	95,94	94	Plutonio ^a	Pu	(244)
43	Tecnezio ^a	Tc	(98)	95	Americio ^a	Am	(243)
44	Rutenio	Ru	101,07	96	Curio ^a	Cm	(247)
45	Rodio	Rh	102,9055	97	Berkelio ^a	Bk	(247)
46	Palladio	Pd	106,42	98	Californio ^a	Cf	(251)
47	Argento	Ag	107,8682	99	Einsteinio ^a	Es	(252)
48	Cadmio	Cd	112,411	100	Fermio ^a	Fm	(257)
49	Indio	In	114,818	101	Mendelevio ^a	Md	(258)
50	Stagno	Sn	118,710	102	Nobelio ^a	No	(259)
51	Antimonio	Sb	121,760	103	Laurenzio ^a	Lr	(262)
52	Tellurio	Te	127,60				

* I valori delle masse atomiche indicati nella tabella si applicano agli elementi così come essi esistono in natura e ad alcuni elementi artificiali. I valori entro le parentesi indicano la massa atomica dell'isotopo con il più lungo periodo di dimezzamento.

^a L'elemento non ha nuclidi stabili.

TABELLA N. 2

“Sostanze medicinali” di cui le farmacie debbono essere provviste obbligatoriamente

(Art.123, lett. *a* del Testo Unico delle Leggi Sanitarie (TULS) approvato con R.D. 27 luglio 1934, n. 1265; art. 34 del Regolamento per il Servizio Farmaceutico approvato con R.D. 30 settembre 1938, n. 1706).

Le farmacie sono obbligate ad essere provviste dei medicinali indicati nella presente tabella nei quantitativi ritenuti sufficienti al regolare espletamento del loro servizio e nelle forme - salvo diverse specificazioni nell'elenco - e nei dosaggi rispondenti alle abituali esigenze terapeutiche, nonché nei confezionamenti più idonei alla loro conservazione ed al loro pratico impiego. Per le basi e gli acidi liberi, l'obbligo è soddisfatto anche con la detenzione di un loro sale.

Nella presente tabella viene riportato:

- in carattere “retto” quanto deve essere tenuto in farmacia come sostanza o dispositivo medico,
- in carattere “corsivo” quanto deve essere tenuto in farmacia come sostanza e/o come prodotto medicinale.

Ace-inibitori⁽¹⁾

Acetazolamide

Acetilcisteina

Acido acetilsalicilico

Acido tranexamico

Acqua depurata

Acqua sterile per preparazioni iniettabili

Adrenalina p.i.

Aminofillina (teofillina-etilendiammina) p.i.

Amiodarone

Ampicillina

Antagonisti β-adrenergici⁽¹⁾

Anticoagulanti cumarolici⁽¹⁾

Antinfiammatori derivati dell'acido acetico⁽¹⁾

Antinfiammatori derivati dell'acido propionico⁽¹⁾

Antistaminici antiH1 orali e p.i.⁽¹⁾

Antistaminici antiH2⁽¹⁾

Antiulcera inibitori della pompa acida⁽¹⁾

Benzodiazepina orale⁽¹⁾

Buprenorfina orale e p.i.

Calcio antagonisti diidropiridinici⁽¹⁾

Calcio antagonisti fenilalchilamminici⁽¹⁾

Carbamazepina

Carbone attivato

Cefalosporina orale⁽¹⁾

Cefalosporina p.i.⁽¹⁾

Chinolonicale orale⁽¹⁾

Codeina fosfato

Contraccettivi sistemici ormonali⁽¹⁾

Cortisonico orale⁽¹⁾

Cortisonico p.i.⁽¹⁾

Diazepam p.i.

Digossina

Eparina p.i.

Eritromicina o altro macrolide

Esteri nitrici per via sublinguale⁽¹⁾

Estradiolo

Etanolo 96 per cento

Fenitoina

Fenobarbital orale e p.i.

Fentanil transdermico

Flumazenil

Furosemide orale e p.i.

Garza idrofila di cotone sterile per medicazione

Gentamicina p.i.

Glucagone

Glucosio infusione endovenosa⁽²⁾

Idroclorotiazide o altro diuretico tiazidico

Idrogeno perossido soluzione 3 per cento

Immunoglobuline umane antitetaniche

Insulina umana p.i.⁽¹⁾

Insulina umana bifasica p.i.⁽¹⁾

Insulina umana zinco cristallina p.i.⁽¹⁾

Iodio

Ipecacuana sciroppo emetico

Ipoglicemizzante orale⁽¹⁾

Litio carbonato

Magnesio idrossido + Alluminio ossido idrato

Magnesio solfato

Metadone cloridrato sciroppo

Metoclopramide p.i.

Morfina p.i., soluzione orale e solido orale

Naloxone

Ossigeno

Oxibuprocaina collirio

<i>Oxicam derivati⁽¹⁾</i>	<i>Simeticone</i>
<i>Paracetamolo</i>	Sodio bicarbonato
<i>Penicillina orale⁽¹⁾</i>	Sodio citrato
<i>Penicillina p.i.⁽¹⁾</i>	Sodio cloruro
Potassio ioduro	<i>Sodio cloruro soluzione isotonica p.i.⁽²⁾</i>
<i>Pralidossima metilsolfato p.i.</i>	<i>Sulfametoxazolo + trimetoprim (Co-trimossazolo)</i>
<i>Progesterone p.i.</i>	<i>Tetraciclina⁽¹⁾</i>
<i>Salbutamolo aerosol</i>	<i>Tramadolo</i>
<i>Scopolamina butilbromuro p.i.</i>	<i>Vaccino tetanico⁽¹⁾</i>
<i>Sierimmune antivipera⁽³⁾</i>	<i>Vitamina K</i>

⁽¹⁾ Una del gruppo

⁽²⁾ Con idoneo dispositivo per infusione venosa

⁽³⁾ L'obbligo è limitato ai Servizi di farmacia di Ospedali con Centro antiveleni

Nota. Le farmacie ospedaliere saranno provviste inoltre dei medicinali necessari a soddisfare le più comuni specifiche esigenze terapeutiche delle strutture.

TABELLA N. 3

Sostanze, le cui monografie sono presenti nella FU, da tenere in armadio chiuso a chiave

(Art. 146, comma 2 del TULS 27 luglio 1934, n. 1265)

Acido nitrico	Noscapina
Acido solforico	Omatropina bromidrato
Acido tricloroacetico	Omatropina metilbromuro
Adrenalina	Ouabaina
Apomorfina cloridrato	Pilocarpina
Argento nitrato	Reserpina
Atropina solfato	Scopolamina bromidrato
Belladonna	Scopolamina solfato
Chinidina solfato	Sodio fluoruro ⁽²⁾
Chinina cloridrato	Suxametonio cloruro
Cloralio idrato	Tetracaina cloridrato
Colchicina	Tiomersal
Cresolo	Tubocurarina cloruro
Digitossina	
Digossina	
Efedrina	
Emetina cloridrato	
Eparina	
Ergometrina maleato	
Ergotamina tartrato	
Fenolo	
Fisostigmina salicilato	
Fisostigmina solfato	
Gallamina trietilioduro	
Imipramina cloridrato	
Iodio ⁽¹⁾	
Iosciamina solfato	
Ipecacuana	
Isotretinoina	
Istamina	
Lidocaina	
Lindano	
Lobelina cloridrato	
Merbromina	
Mercurio dicloruro	
Mercurio ossido giallo	
Metilatropina	
Neostigmina metilsolfato	
Noradrenalina	

Limitatamente alle sostanze organiche devono ritenersi inclusi nel presente elenco anche le basi libere dei sali elencati e viceversa, nonché altri sali delle stesse.

Note.

- 1) Le prescrizioni dell'art. 146 del TULS si applicano alle sostanze e non ai medicinali che le contengono sia nel caso di preparati soggetti ad A.I.C. che di preparati magistrali ed officinali.
Le prescrizioni dell'art. 146 del TULS devono essere osservate anche per tutte le sostanze tossiche o molto tossiche che sono o non sono iscritte in Farmacopea.
- 2) Per la vendita e somministrazione di sostanze tossiche e delle loro preparazioni galeniche eseguite integralmente in farmacia, vanno rispettate le disposizioni di legge, anche per quanto riguarda le norme relative alla spedizione delle ricette (art. 123, lettera c) e 147 del TULS; artt. 39 e 40 del Regolamento per il Servizio Farmaceutico, R.D. 30 settembre 1938, n. 1706; art. 730 del Codice Penale).
- 3) Le sostanze, i loro sali e preparazioni ad azione stupefacente di cui alla tabella II, sez. A della Tabella n. 7 vanno tenuti in armadio chiuso a chiave, separati dalle sostanze tossiche di cui alla presente tabella.

⁽¹⁾ Le preparazioni "Iodio soluzione cutanea", "Iodio soluzione orale", "Iodio unguento", "Iodio e acido salicilico soluzione cutanea", "Iodio e glicerolo soluzione" non sono soggette alle disposizioni di cui al punto 2) delle Note.

⁽²⁾ La preparazioni "Sodio fluoruro compresse", contenente fino a 2,2 mg di sodio fluoruro per compressa, non è soggetta alle disposizioni di cui al punto 2) delle Note.

TABELLA N. 4

Elenco dei prodotti che il farmacista non può vendere se non in seguito a presentazione di ricetta medica.

(Art. 124, lettera *a* del TULS modificato con Legge 7 novembre 1942, n. 1528, art. 4 del Decreto legislativo 30 dicembre 1992 n. 539, art. 71 del Decreto del Presidente della Repubblica del 9 ottobre 1990, n. 309).

- 1) Preparazioni di barbiturici in associazione ad altri principi attivi, ad eccezione di quelle preparazioni ad azione antalgica che contengono quantità di barbiturici, per dose unitaria, tale da aver giustificato la loro esenzione dall'obbligo di ricetta in sede di A.I.C. delle preparazioni stesse come medicinale industriale.
- 2) Tranquillanti, ansiolitici e derivati pirazolopirimidinici, neurolettici, salvo quelli previsti nella Tabella 5.
- 3) Antidepressivi salvo quelli previsti nella Tabella 5.
- 4) Antiepilettici non barbiturici.
- 5) Preparazioni di ipnotici non barbiturici in associazione ad altri principi attivi, ad eccezione di quelle preparazioni ad indicazione antalgica che contengono quantità di ipnotico non barbiturico, per dose unitaria, tale da aver giustificato la loro esenzione dall'obbligo di ricetta in sede A.I.C. delle preparazioni stesse come medicinale industriale.
- 6) Antispastici, anticolinergici, miorilassanti ad azione centrale e procinetici ad eccezione del punto 13) della Tabella n. 5.
- 7) Antiulcera peptica (antagonisti dei recettori H₂, inibitori della pompa acida, ecc.).
- 8) Cardiovascolari (cardiotonici, antianginosi, antiaritmici, betabloccanti, ecc.).
- 9) Diuretici, antipertensivi, preparazioni per applicazione cutanea contenenti minoxidil.
- 10) Vasoattivi.
- 11) Uricosurici e antigottosi.
- 12) Antimicrobici (sulfamidici, antibiotici, antifunghi), antivirali.
- 13) Ormoni sintetici ed estrattivi, medicinali ad azione ormonica.
- 14) Tutti i medicinali contenenti estrogeni, progestinici, soli ed associati, aventi come esclusiva indicazione la prevenzione del concepimento.
- 15) Antiparkinsoniani.
- 16) Anticoagulanti ed emocoagulanti, escluse le preparazioni per applicazione cutanea.
- 17) Antistaminici escluse le preparazioni per applicazione cutanea.
- 18) Ipoglicemizzanti e iperglicemizzanti.
- 19) Analgesici non stupefacenti, antinfiammatori, antireumatici, ad eccezione delle preparazioni previste ai punti 1) e 5) della presente tabella e di quelle per applicazione cutanea.
- 20) Ipolipidemizzanti, ipocolesterolemizzanti.
- 21) Medicinali a base di vitamine, quando siano presentati in dosi tali da poter determinare danni da ipervitaminosi.
- 22) Preparati per la tosse ad azione centrale, salvo quanto previsto dal punto 30) della presente tabella.
- 23) Preparazioni per uso diverso da quello iniettabile, contenenti destropropoxifene in associazione con altri principi attivi.
- 24) Antiemetici ed antinausea, esclusi i preparati a base di dimenidrinato.
- 25) Antidoti ad azione specifica, ad eccezione del naloxone iniettabile.
- 26) Vaccini semplici o misti, preventivi e curativi, escluso il punto 12) della Tabella 5.
- 27) Sieri preventivi e curativi.
- 28) Antiprotozoari e antielmintici.
- 29) Tutti i medicinali per uso parenterale (intramuscolare, endovenoso, ecc.) ad eccezione dell'acqua sterile per preparazioni iniettabili e di sodio cloruro soluzione 0,9 per cento (soluzione fisiologica).
- 30) Preparazioni per uso diverso da quello iniettabile, le quali in associazione con altri principi attivi o in quantità totale per confezione non superiore alla dose massima nelle 24 h (Tabella n. 8), contengono acetildiidrocodeina, codeina, diidrocodeina, etilmorfina, folcodina, nicodina, nicodicodina, norcodeina e loro sali per un quantitativo complessivo delle suddette sostanze, espresso come base anidra, inferiore all'1 per cento in peso per preparazione multidose, o per le preparazioni monodose una quantità inferiore a 0,010 g per unità di somministrazione per via orale o a 0,020 g per unità di som-

ministrazione per via rettale, e comunque in quantità totale, per ciascuna confezione, non superiore a 0,250 g delle suddette sostanze.

- 31) Immunostimolanti.
- 32) I medicinali veterinari prescritti ad animali da compagnia e per essi indicati in modo esclusivo, ad eccezione di quelli riportati all'ultimo periodo del punto 19) della Tabella n. 5. Il Ministero della salute può espressamente autorizzare alcuni chemioterapici, antibiotici ed antiparassitari orali qualora siano destinati al trattamento di animali di allevamenti a carattere familiare che producono per autoconsumo.
- 33) Medicinali usati nella disfunzione dell'erezione.
- 34) Tutti i nuovi prodotti introdotti in terapia fatta salva ogni determinazione del Ministero della salute.

Note.

È comunque subordinata a presentazione obbligatoria della ricetta medica la vendita dei medicinali per i quali

il Ministero della salute faccia obbligo di riportare sulle etichette la scritta "Da vendersi dietro presentazione di ricetta medica".

Il Ministro della salute potrà ammettere alla vendita senza ricetta medica preparazioni medicinali appartenenti alle categorie elencate, qualora per dose unitaria, quantità contenuta nella singola confezione, natura del medicinale e modalità d'uso, non risultino pericolose.

Sono altresì esentati dalla vendita dietro presentazione di ricetta medica i preparati officinali allestiti in farmacia che contengano una quantità per dose e per confezione di principio attivo uguale o inferiore a quella del medicinale industriale esentato in sede di AIC ad eccezione di quelli che sono soggetti alla Legge 14.12.2000, n. 376, e successive modificazioni.

I preparati magistrali a base di principi attivi contenuti in medicinali di origine industriale e soggetti a ricetta limitativa secondo gli art. 92, 93 e 94 del Decreto legislativo 24 aprile 2006, n. 219 e successive modificazioni possono essere allestiti solo alle condizioni previste in sede di AIC per i medicinali industriali corrispondenti.

ANNOTAZIONE - La ripetibilità della vendita dei medicinali, soggetti all'obbligo di ricetta medica, è consentita, salvo diversa indicazione del medico, per un periodo non superiore a sei mesi a partire dalla data di compilazione della ricetta e comunque per non più di dieci volte, ad esclusione dei medicinali contenenti sostanze stupefacenti e psicotrope, di cui alla Tabella II, sez. E degli Stupefacenti, per i quali la ripetibilità della vendita è consentita per un periodo non superiore a trenta giorni e complessivamente per non più di tre volte.

L'indicazione da parte del medico di un numero di confezioni superiore all'unità esclude la ripetibilità della ricetta. Il farmacista deve conservare per sei mesi copia della ricetta quando prescriva un preparato magistrale o officinale.

TABELLA N. 5

Elenco dei prodotti la cui vendita è subordinata a presentazione di ricetta medica da rinnovare volta per volta e da ritirare dal farmacista.

(Art. 124, lettera *b*, del TULS approvato con R.D. 27 luglio 1934, n. 1265, modificato con Legge 7 novembre 1942, n. 1528; art. 71 del D.P.R. 9 ottobre 1990, n. 309; art. 16 del Decreto legislativo 29 maggio 1991, n. 178 e successive modifiche; artt. 5, 6 e 8 del Decreto legislativo 30 dicembre 1992, n. 539 e successive modifiche).

- 1) Medicinali a base di sostanze stupefacenti e psicotrope indicate nella tabella II, sez. B, C, D della tabella n. 7 approvata con decreto ministeriale, in applicazione al D.P.R. 9 ottobre 1990, n. 309.
- 2) Anoressizzanti⁽¹⁾.
- 3) Medicinali per uso parenterale a base di benzodiazepine e derivati della fenotiazina e dell'aloperidolo.
- 4) Inibitori della monoaminossidasi a base di tranilcipromina; medicinali a base di veralipride, clozapina e medicinali antidemenza anticolinesterasici.
- 5) Curarici e anestetici generali. Anestetici locali, escluse le preparazioni per applicazione cutanea, non oftalmiche.
- 6) Alprostadil soluzione iniettabile.
- 7) Citostatici. Immunosoppressori.
- 8) Anabolizzanti.
- 9) Medicinali a base di fenilbutazone, oxifenbutazone o nimesulide, escluse le preparazioni per applicazione cutanea.
- 10) Tutti i medicinali a base di estrogeni, progestinici, soli od associati, ciproterone, danazolo; inibitori della prolattina a base di cabergolina.
- 11) Vaccini delle epatiti.
- 12) Medicinali a base di cisapride.
- 13) Medicinali a base di epoietine.
- 14) Medicinali a base di ticlopidina e di floctafenina.
- 15) Medicinali a base di isotretinoina ed etretinato esclusi quelli per applicazione cutanea.
- 16) I preparati magistrali a base delle sostanze incluse nelle classi farmacologiche della Legge 14.12.2000, n. 376 e successive modifiche, integrazioni e decreti correlati, tranne quelli per i quali la legge prevede ricetta ripetibile.
- 17) I medicinali veterinari indicati anche, o esclusivamente, per animali destinati alla produzione di alimenti per l'uomo che, in relazione alle categorie terapeutiche previste nel decreto legislativo 6 aprile 2006, n. 193 e successive modifiche ed integrazioni, riportino sulla confezione la dicitura "Da vendersi dietro presentazione di ricetta medica veterinaria in triplice copia non ripetibile"; i medicinali prescritti dal medico veterinario per le somministrazioni ad animali destinati alla produzione di alimenti per l'uomo secondo le condizioni previste dall'art. 11 del decreto legislativo 6 aprile 2006, n. 193 e successive modifiche e integrazioni.
- 18) I medicinali veterinari indicati per animali destinati alla produzione di alimenti per l'uomo, per i quali non è richiesta la ricetta in triplice copia, come previsto al punto 17) della presente tabella; i medicinali veterinari omeopatici autorizzati con procedura semplificata secondo l'art. 20 del decreto legislativo 6 aprile 2006, n. 193; i medicinali veterinari autorizzati solo per animali da compagnia che riportino sulla confezione la dicitura "Da vendersi dietro presentazione di ricetta medica veterinaria non ripetibile".
- 19) I medicinali per uso umano prescritti dal medico veterinario per la somministrazione ad animali da compagnia secondo le condizioni previste dall'art. 10, del decreto legislativo 6 aprile 2006, n. 193 e successive modifiche ed integrazioni.
- 20) I preparati magistrali prescritti ad animali destinati alla produzione di alimenti per l'uomo sono soggetti alle disposizioni previste dal primo periodo del punto 17) della presente tabella; quelli destinati ad animali da compagnia al punto 18) della presente tabella.

Note.

Per l'acquisto, la detenzione, la vendita e le operazioni di documentazione delle sostanze stupefacenti e psicotrope e loro preparazioni indicate nella Tabella II, sez. A approvata con decreto ministeriale, in applicazione degli articoli 13 e 14 del D.P.R. 9 ottobre 1990, n. 309, vanno rispettate le disposizioni della legge medesima e delle successive integrazioni e modifiche introdotte con la Legge 8 febbraio 2001, n. 12.

È comunque subordinata a presentazione obbligatoria della ricetta medica da rinnovare volta per volta, da ritirare da parte del farmacista, la vendita dei medicinali soggetti ad autorizzazione all'immissione in commercio per i quali il Ministero della salute faccia obbligo di riportare sulle etichette la dicitura "Da vendersi dietro presentazione di ricetta medica utilizzabile una sola volta" o dizione analoga.

Con decreto del Ministro della salute possono essere stabilite, nel rispetto delle direttive e raccomandazioni della Comunità Europea, condizioni e prescrizioni di carattere generale relative a tutti i medicinali o a particolari gruppi di essi, ivi comprese disposizioni sull'etichettatura e sul confezionamento dei medicinali e sulle modalità di prescrizione e di impiego.

Il Ministro della salute può vietare l'utilizzazione di medicinali, anche preparati in farmacia, ritenuti pericolosi per la salute pubblica.

La ricetta medica da rinnovare volta per volta (non ripetibile), relativa ai medicinali soggetti ad autorizzazione all'immissione in commercio ai sensi del Decreto Legislativo 24 aprile 2006, n. 219 e successive modifiche, ha validità limitata a trenta giorni e deve essere ritirata dal farmacista che è tenuto a conservarla per sei mesi e quindi a distruggerla per evitare l'accesso di terzi ai dati in essa contenuti ai sensi del Decreto Legislativo 30 luglio 1999, n. 282, qualora non la consegna all'autorità competente per il rimborso del prezzo a carico del Servizio sanitario nazionale; la ricetta priva

del nome e cognome del paziente o del suo codice fiscale (o delle sole iniziali, nei casi in cui disposizioni di carattere speciale esigano la riservatezza dei trattamenti), della data e della firma del medico non ha validità. In ogni altro caso la validità della ricetta non ripetibile è limitata ad un periodo non superiore a tre mesi.

Il farmacista deve conservare per almeno sei mesi le ricette non ripetibili relative ai preparati magistrali e officinali. Nel caso di ricette contenenti sostanze soggette alla Legge 14.12.2000, n. 376, i sei mesi decorrono a partire dal 31 gennaio dell'anno in cui viene effettuata la trasmissione dei dati al Ministero della salute.

Per la documentazione delle ricette veterinarie il farmacista è tenuto, in base al Decreto Legislativo 6 aprile 2006, n. 193 e successive modifiche ed integrazioni, a conservare per cinque anni la copia della ricetta medica veterinaria in triplice copia, la cui validità massima è di dieci giorni lavorativi dalla data di emissione, di cui al punto 17) della presente tabella e per sei mesi le ricette non ripetibili di cui ai punti 18) e 19) della presente tabella.

⁽¹⁾ La dispensazione da parte dei farmacisti di preparazioni magistrali contenenti la sostanza fendimetrazina è disciplinata dalle disposizioni previste per le specialità medicinali dagli articoli 2, 3 comma 2, e dall'art. 4 del Decreto 18 settembre 1997, **Divieti e limitazioni nella prescrizione e preparazione dei medicinali anoressizzanti ad azione centrale**, e per un quantitativo comunque non superiore a quello necessario per trenta giorni di terapia (art. 1 del Decreto del Ministro della Sanità del 30 ottobre 1998); è anche obbligatoria, per la prescrizione di medicinali a base della sostanza citata, l'adozione da parte di specialisti di un piano generale di trattamento nel cui ambito sono circoscritte le prescrizioni da parte dei medici di medicina generale. Il piano generale di trattamento deve recare le seguenti informazioni:

- nome, cognome del paziente e data di compilazione;
- indicazione del nome e della confezione del preparato magistrale;
- dichiarazione del medico, sotto propria responsabilità, che all'inizio del trattamento l'indice di massa corporea del paziente era maggiore o uguale a 30 kg/m²;
- dose giornaliera del farmaco e durata della terapia, che non può in nessun caso superare i tre mesi;
- nome, cognome, indirizzo e firma del medico con indicazione della specializzazione posseduta (esclusivamente: scienza dell'alimentazione, endocrinologia e malattie del ricambio, diabetologia, medicina interna).

Il farmacista dispensa il preparato magistrale prescritto in quantità comunque non superiore al fabbisogno di trenta giorni di terapia per la prima spedizione su ricetta redatta dallo specialista o dal medico curante e presentata insieme al piano generale di trattamento. Nelle successive spedizioni il farmacista può dispensare il preparato magistrale per un fabbisogno non superiore a trenta giorni; non può dispensare un altro preparato qualora non sia intercorso il periodo previsto per l'assunzione delle unità posologiche relative all'ultima confezione dispensata.

Non sono spedibili ricette non accompagnate dal piano generale di trattamento; all'atto di ogni spedizione il farmacista vi appone timbro, data e prezzo di cessione riconsegnandolo al paziente. Non sono spedibili ricette redatte dopo la scadenza del piano generale di trattamento o comunque dopo tre mesi dalla data di compilazione.

TABELLA N. 6

Apparecchi ed utensili obbligatori in farmacia

(Art. 34, secondo comma e art. 44 del Regolamento per il Servizio Farmaceutico R.D. 30 settembre 1938, n. 1706)

- | | |
|---|---|
| <p>1) Bilancia sensibile a 1 mg della portata di almeno 500 g o in alternativa due distinte bilance, l'una sensibile a 1 mg della portata di almeno 50 g e l'altra sensibile a 0,50 g della portata di almeno 2 kg.</p> <p>2) Bagno maria od altra apparecchiatura idonea ad assicurare, nel riscaldamento, temperature fino a 100 °C.</p> <p>3) Armadio frigorifero in grado di assicurare le corrette condizioni di conservazione, compresi i limiti di temperatura quando previsti.</p> <p>4) Apparecchio per il punto di fusione.</p> <p>5) Alcoolometro centesimale.</p> <p>6) Corredo di vetreria chimica comune e graduata, sufficiente alla esecuzione delle preparazioni.</p> <p>7) Percolatore - Concentratore a vuoto⁽¹⁾.</p> | <p>8) Incapsulatrice⁽²⁾.</p> <p>9) Comprimitrice⁽³⁾.</p> <p>10) Sistema di aspirazione per polveri⁽⁴⁾.</p> <p>11) Stampi o valve in plastica per ovuli e supposte⁽⁵⁾.</p> <p>Oltre agli apparecchi elencati, le farmacie devono essere fornite di tutti gli apparecchi, utensili, materiali, prodotti e reattivi adeguati al numero ed alla natura delle preparazioni abitualmente eseguite e di idonee apparecchiature per il loro controllo da effettuare secondo le indicazioni della Farmacopea.</p> <p>Le farmacie che eseguono preparazioni iniettabili devono essere corredate anche del materiale, dell'attrezzatura e dell'apparecchiatura indispensabili alla preparazione e all'esecuzione di tutti i controlli previsti dalla Farmacopea per questa forma farmaceutica.</p> |
|---|---|

⁽¹⁾ Obbligatori per le farmacie che preparano estratti. Devono essere di materiale e dimensioni adeguate al volume ed al carattere delle preparazioni da eseguire.

⁽²⁾ Obbligatoria per le farmacie che preparano capsule.

⁽³⁾ Obbligatoria per le farmacie che preparano compresse.

⁽⁴⁾ Obbligatorio per le farmacie che preparano compresse, capsule, tisane, o bustine.

⁽⁵⁾ Obbligatori per le farmacie che preparano supposte e/o ovuli.

Tabelle

TABELLA N. 7

Elenco delle sostanze, loro sali e preparazioni ad azione stupefacente o psicotropa.

D.P.R. 9 ottobre 1990, n. 309 (GU 31 ottobre 1990, n. 255); Legge 8 febbraio 2001, n. 12 (GU 19 febbraio 2001, n. 41); Legge 21 febbraio 2006, n. 49 (GU 27 febbraio 2006, n. 48); DD.MM. 19 giugno 2006 (GU 27 giugno 2006, n. 147), 18 aprile 2007 (GU 28 aprile 2007, n. 98), 18 luglio 2007 (GU 27 luglio 2007, n. 173), 25 settembre 2007 (GU 11 ottobre 2007, n. 237), 21 dicembre 2007 (GU 29 gennaio 2008, n. 24), 19 febbraio 2008 (GU 5 marzo 2008, n. 309).

TABELLA I

NOTA: Sono ricomprese tutte le sostanze suscettibili di abuso.

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
2C-B	4-bromo-2,5-dimetossifenetilamina	
2C-I	2,5-dimetossi-4-iodofenetilamina	
2C-T-2	2,5-dimetossi-4-etiltiofenetilamina	
2C-T-7	2,5-dimetossi-4-(n)-propiltio-fenetilamina	
4-metilaminorex	4-metil-2-amino-5-fenil-2-ossazolina	
4-MTA	4-metiltioamfetamina	
Acetil-alfa-metilfentanil	N-[1-(alfa-metilfeniletil)-4-piperidil]acetanilide	
Acetildietilammide dell'acido (+)-liserigico	estere acetico del 9,10-dideidro-N,N-dietil-6-metilergolina-8-beta-carbossamide	
Acetildiidrocodeina	estere acetico del 6-idrossi-3-metossi-N-metil-4,5-epossimorfinano	
Acetorfina	3-O-acetiltetraidro-7-alfa-(1-idrossi-1-metilbutil)-6,14-endoeteno-oripavina	acetato di etorfina
Acido gamma-idrossibutirrico (GHB)	acido 4-idrossibutirrico	
Alcaloidi totali dell'oppio		
Alfacetilmetadolo	alfa-3-acetossi-6-dimetilamino-4,4-difenilnileptano	alfa-acetilmetadone
Alfameprodina	alfa-1-metil-3-etil-4-fenil-4-propionossipiperidina	
Alfametadolo	alfa-6-dimetilamino-4,4-difenil-3-epetanololo	
Alfametilfentanil	N-[1-(alfa-metilfeniletil)-4-piperidil]propioanilide	3-metilfentanil
Alfametilfentanil	N-[1-[1-metil-2-(2-tienil)etil]-4-piperidil]propioanilide	3-metiltiofentanil
Alfaprodina	alfa 1,3-dimetil-4-fenil-4-propionossipiperidina	

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Allilprodina	3-allil-1-metil-4-fenil-4-propionossipiperidina	
Amfetamina	(±)-alfa-metilfenilettilamina	
Amide dell'acido lisergico	9,10-dideidro-6-metilergolina-8-beta-carbossamide	
Aminorex	2-amino-5-fenil-2-ossazolina	
Anileridina	estere etilico dell'acido 1-para-aminofenilettil-4-fenil-piperidin-4-carbossilico	Alidina
Argyrea nervosa semi		
Benzetidina	estere etilico dell'acido 1-(2-benzilossietil)-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	benzilossietilnorpetidina
Benzilmorfina	3-O-benzilmorfina	ipesandrina
Benzilpiperazina (BZP)	N-Benzilpiperazina	1-Benzilpiperazina
Benzitramide	1-(3-ciano-3,3-difenilpropil)-4-(2-ossi-3-propionil-1-benzimidazolinil)-piperidine	
Betacetilmetadolo	beta-3-acetossi-6-dimetilamino-4,4-difenileptano	
Beta-idrossifentanil	N-[1-(beta-idrossifenilettil)-4-piperidil]-propioanilide	
Beta-idrossimetil-3-fentanil		
Betameprodina	beta-1-metil-3-etil-4-fenil-4-propionossipiperidina	
Betametadolo	beta-6-dimetilamino-4,4-difenil-3-eptanolo	
Betaprodina	beta-1,3-dimetil-4-fenil-4-propionossipiperidina	
Buprenorfina	21 - ciclopropil - 7 - alfa-[(S) - 1 - idrossi - 1,2,2 - trimetilpropil] - 6,14 - endo - etan - 6,7,8,14 - te - traidrooripavina	
Butirrato di diossafetile	4-morfolino-2,2-difenilbutirrato di etile	
Catha edulis pianta		
Catina	(+)-norpseudoefedrina	
Catinone	(-)-(S)-2-aminopropiofenone	
Chetobemidone	4-meta-idrossifenil-1-metil-4-propionilpiperidina	
Clonitazene	2-para-clorobenzil-1-dietilaminoetil-5-nitrobenzimidazolo	
Coca foglie		
Cocaina	estere metilico della benzoilecgonina	
Codossima	diidrococaina-6-carbossimetilossima	
Delta-8-tetraidrocannabinolo (THC)		

Tabella

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Delta-9-tetraidrocannabinolo (THC)	(6aR,10aR)-6a,7,8,10a-tetraidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]piran-1-olo	
Desomorfina	Diidrosossimorfina	
Destroamfetamina	(+)-alfa-metilfeniletilamina	
Destromoramide	(+)-4-[2-metil-4-osso-3,3-difenil-4-(1-pirrolidinil)butil]-morfolino	
Destromoramide intermedio		
DET (N,N-dietiltriptamina)	3-[2-(dietilamino)etil]indolo	
Diampromide	N-[2-(metilfeniletilamino)-propil]propioanilide	
Dietilamide dell'acido (+) - 1 - metil - lisergico		
Dietiltiambutene	3-dietilamino-1,1-di-(2'-tienil)-1-butene	
Difenossilato	estere etilico dell'acido 1-(3-ciano-3,3-difenilpropil)-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	
Difenossina	acido 1-(3-ciano-3,3-difenil-propil)-4-fenilisonipecotico	
Diidroetorfina	7,8-diidro-7-alfa-[1-(R)-idrossi-1-metil-butil]-6,14-endo-etanotetraidrooripavina	
Diidromorfina	(5-alfa, 6-alfa)-4,5-eossi-17-metil-morfina-3,6-diolo	paramorfano
Dimefeptanolo	6-dimetilamino-4,4-difenil-3-eptanolo	
Dimenossadolo	2-dimetilaminoetil-1-etossi-1,1-difenilacetato	
Dimetiltiambutene	3-dimetilamino-1,1-di-(2'-tienil)-1-butene	
Dipipanone	4,4-difenil-6-piperidin-3-eptanone	fenilpiperone
DMA (2,5-dimetossiamfetamina)	(±)-2,5-dimetossi-alfa-metilfeniletilamina	
DMHP (1-idrossi-3(1,2-dimetileptil)-7,8,9,10-tetraidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo[b,d]pirano)	3-(1,2-dimetileptil)-7,8,9,10-tetraidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo[b,d]piran-1-olo	
DMT (N,N-dimetiltriptamina)	3-[2-(dimetilamino)etil]indolo	N,N-dimetil-1H-indol-3-etanamina
DOB (4-bromo-2,5-dimetossiamfetamina)	(±)-4-bromo-2,5-dimetossi-alfa-metilfeniletilamina	brolamfetamina
DOET (4-etil-2,5-dimetossiamfetamina)	(±)-4-etil-2,5-dimetossi-alfa-feniletilamina	
DOM (4-metil-2,5-dimetossiamfetamina)	2,5-dimetossi-alfa,4-dimetilfeniletilamina	STP

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Drotebanolo	3,4-dimetossi-17-metilmorfinan-6-beta,14-diolo	ossimetebanolo
Ecgonina	acido 3-beta-idrossi-1-alfa-H,-5alfa-H-tropan-2-beta-carbossilico	
Eroina	Diacetilmorfina	diamorfina
Etclorvinolo	1-cloro-3-etil-1-penten-4-in-3-olo	
Etfossina	6-cloro-2-(etilamino)-4-metil-4-fenil-4H-3,1-benzossazina	
Etilmetiltiambutene	3-etilmetilamino-1,1-di-(2'-tienil)-1-butene	
Etilmorfina	3-O-etilmorfina	
Etonizatene	1-dietilaminoetil-2-para-etossibenzil-5-nitrobenzimidazolo	
Etorfina	tetraidro-7-alfa-(1-idrossi-1-metilbutil)-6,14-endoeteno-oripavina	
Etosseridina	estere etilico dell'acido 1-[2-(2-idrossietossi)-etil]-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	
Etriptamina	3-(2-aminobutil)indolo	alfa-etiltriptamina
Fenadoxone	6-morfolin-4,4'-difenil-3-eptanone	morfodone; eptazone
Fenampramide	N-(1-metil-2-piperidinoetil)-propioanilide	
Fenazocina	2'-idrossi-5,9-dimetil-2-feniletil-6,7-benzomorfanone	fenetilazocina; fenobenzorfanone
Fenetillina	7-[2-[(alfa-metilfeniletil)amino]etil]teofilina	
Fenmetrazina	3-metil-2-fenilmorfolina	
Fenomorfano	3-idrossi-N-feniletilmorfinano	
Fenoperidina	estere etilico dell'acido 1-(3-idrossi-3-fenilpropil)-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	
Flunitrazepam	5-(orto-fluorofenil)-1,3-diidro-1-metil-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Folcodina	Morfoniletilmorfina	omocodeina
Funghi del genere strobilaria, conocybe e psilocybe		
Furetidina	estere etilico dell'acido 1-(2-tetraidrofurfurilossietil)-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	
Gamma-butilrolattone (GBL)		
Idromorfinolo	14-idrossidiidromorfina	
Idrossipetidina	estere etilico dell'acido 4-meta-idrossifenil-1-metilpiperidin-4-carbossilico	demidone; ossipetidina

Tabella

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Ipomoea violacea semi		
Isometadone	6-dimetilamino-5-metil-4,4-difenil-3-esanone	
Ketamina	(±)-2-(2-clorofenil)-2-(metilamino) cicloesanone	
Levoamfetamina	(-)(R)-alfa-metilfeniletilamina	
Levofenacilmorfano	(1)-3-idrossi-N-fenacilmorfinano	
Levometafetamina	(-)-N,alfa-dimetilfeniletilamina	
Levomorfano	(-)-3-metossi-N-metilmorfinano	
Levomorfamide	(-)-4-[2-metil-4-ossi-3,3-difenil-4-(1-pirrolidinil)-butil]morfolina	
Levorfanolo	(-)-3-idrossi-N-metilmorfinano	
Lophophora Williamsii pianta (Peyote)		
LSD (Dietilamide dell'acido lisergico)	9,10-dideidro-N,N-dietil-6-metilergolina-8-beta-carbossamide	(+)-lysergide; (+)-N,N-dietil-lysergamide; LSD 25
MBDB (N-metil-(3,4-metilen-diossifenil)-2-butanamina)	N-metil-alfa-etil-3,4-metilendiossifeniletilamina	
MDA (3,4-metilendiossiamfetamina)	Tenamfetamina	alfa-metil-3,4-(metilendiossi)-feniletilamina
MDEA (3,4-metilendiossietilamfetamina)	(±)-N-etil-alfa-metil-3,4-(metilendiossi)-feniletilamina	MDE; N-etil-MDA
MDMA (3,4-metilendiossimetamfetamina)	(±)-N,alfa-dimetil-3,4-(metilendiossi)feniletilamina	N,alfa-dimetil-omopiperonilamina
Meclofenossato	estere 2-(dimetilamino)etilico dell'acido 4-cloro-fenossiacetico	
Mescalina	3,4,5-trimetossifeniletilamina	TMPEA
Mesocarb	3-(alfa-metilfeniletil)-N-(fenilcarbamoil) sidnone ammina	
Metadone	6-dimetilamino-4,4-difenil-3-eptanone	
Metadone intermedio	4-ciano-2-dimetilamino-4,4-difenilbutano	
Metamfetamina	(+)-(S)-N,alfa-dimetilfeniletilamina	desossiefedrina; (+)-2-metilamino-1-fenilpropano
Metazocina	2'-idrossi-2,5,9-trimetil-6,7-benzomorfanone	metobenzorfanone
Metilcatinone	2-(metilamino)-1-fenilpropan-1-one	metcatinone
Metildesorfina	6-metil-delta-6-deidrossimorfina	
Metildiidromorfina	6-metil-diidromorfina	
Metilfenidato	estere metilico dell'acido 2-fenil-2-(2-piperidil)-acetico	fenilidato
Metopone	5-metil-diidromorfinone	

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Mirofina	Miristilbenzilmorfina	3-benzil-6-miristil-morfina
MMDA (5-metossi-3,4-metilendiossiamfetamina)	2-metossi-alfa-metil-4,5-(metilendiossi) feniletilamina	
Monoetilamide dell'acido (+)-1-metil-lisergico	9,10-dideidro-N-etil-N-[1-idrossi-metil]propil]-1,6-metilergolina-8-beta-carbossanzone	
Monoetilamide dell'acido (+)-lisergico	9,10-dideidro-N-etil-6-metilergolina-8-beta-carbossamide	
Morferidina	estere etilico dell'acido 1-(2-morfolinoetil)-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	morfolinietilnorpetidina
Morfina	7,8-deidro-4,5-epossi-3,6-diidrossi-N-metilmorfinano	
Morfina metil bromuro ed altri derivati morfiniti ad azoto pentavalente tra i quali i derivati N-ossimorfiniti (quale la N-ossicodeina)		
Morfolide dell'acido (+) lisergico		
MPPP	estere propionico dell'1-metil-4-fenil-4-piperidinolo	
N-etilamfetamina	N-etil-alfa-metilfeniletilamina	
Nicocodina	6-nicotinilcodeina	
Nicodicodina	6-nicotinildiidrocodeina	NDHC
Nicomorfina	3,6-dicotinilmorfina	
N-idrossi-MDA	(±)-N-[alfa-metil-3,4-(metilendiossi) feniletil] idrossilamina	
Noracimetadolo	(±)-alfa-3-acetossi-6-metilamino-4,4-difenileptano	
Norcodeina	N-demetilcodeina	
Norlevorfanolo	(-)-3-idrossimorfinano	(-)-morfinan-3-olo
Normetadone	6-dimetilamino-4,4-difenil-3-esanone	desmetilmetadone
Normorfina	Demetilmorfina	morfina N-demetilata
Norpipanone	4,4-difenil-6-piperidin-3-esanone	
Oppio		
Oripavina	3-O-demetiltebaina; oppure: 6,7,8,14-tetraidro-4,5-alfa-epossi-6-metossi-17-metilmorfinan-3-olo	
Paglia di papavero		
Paraesil	3-esil-7,8,9,10-tetraidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo[b,d]piran-1-olo	5'-metil-delta6a-10a-tetraidrocannabinolo
Para-fluorofentanil	4'-fluoro-N-(1-feniletil-4-piperidil)propionanilide	

Tabelle

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
PCE (eticiclidina)	N-etil-1-fenilcicloesilamina	cicloesamina
PCP (fenciclidina)	1-(1-fenilcicloesil)piperidina	
Pemolina	2-amino-5-fenil-2-ossazolin-4-one	
PEPAP	estere acetico dell'1-feniletil-4-fenil-4-piperidinolo	
Petidina	estere etilico dell'acido 1-metil-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	meperidina
Petidina intermedio A	1-metil-4-ciano-4-fenilpiperidina	
Petidina intermedio B	estere etilico dell'acido 4-fenilpiperidin-4-carbossilico	normeperidina; norpetidina
Petidina intermedio C	acido 1-metil-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	acido meperidinico; acido petidinico; acido gevelinico
PHP (roliciclidina)	1-(1-fenilcicloesil)pirrolidina	PCPY
Piminodina	estere etilico dell'acido 4-fenil-1-(3-fenilaminopropil)-piperidin-4-carbossilico	anopridina
Piritramide	amide dell'acido 1-(3-ciano-3,3-difenilpropil)-4-(1-piperidin)piperidin-4-carbossilico	pirinitramide
Pirrolidide dell'acido (+) lisergico		
PMA (para-metossiamfetamina)	para-metossi-alfa-metilfeniletilamina	
PMMA (para-metossiametamfetamina)	para-metossi-N,alfa-dimetilfeniletilamina	
Preparati attivi della Cannabis (hashish, marijuana, olio, resina, foglie e infiorescenze)		
Proeptazina	1,3-dimetil-4-fenil-4-propio-nossiazacicloptano	dimefeprimina
Prolintano	1-[1-(fenilmetil)butil]pirrolidina	
Properidina	estere isopropilico dell'acido 1-metil-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	ipropetidina; gevelina; isopedina
Propiram	N-(1-metil-2-piperidinoetil)-N-2-piridilpropionamide	
Psilocibina	diidrogeno fosfato del 3-[2-(dimetilamino)etil]indol-4-olo	indocibina
Psilocina	3-[2-(dimetilamino)etil]indol-4-olo	psilotsina
Racematorfano	(±)-3-metossi-N-metilmorfinano	deossidiidrotebacodina; metorfano
Racemoramide	(±)-4-[2-metil-4-ossi-3,3-difenil-4-(1-pirrolidinil)-butil]-morfolina	
Racemorfano	(±)-3-idrossi-N-metilmorfinano	metorfano
Rivea corymbosa semi		

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Salvia divinorum pianta		
Salvinorina A		
TCP (tenociclidina)	1-[1-(2-tienil)cicloesil]piperidina	
Tebacone	6-acetossi-4,5-epossi-3-metossi-N-metil-morfin-6-ene	acetildiidrocodeinone
Tebaina	6,7,8,14-tetradeidro-4,5alfa-epossi-3,6-dimetossi-17-metilmorfinano	paramorfina
Tilidina	(±)-etil-trans-2-(dimetilamino)-1-fenil-3-cicloesene-1-carbossilato	
TMA (3,4,5-trimetossiamfetamina)	(±)-3,4,5-trimetossi-alfa-metilfeniletilamina	
TMA-2	2,4,5-trimetossiamfetamina	
Trimeperidina	1,2,5-trimetil-4-fenil-4-propionossipiperidina	dimetilmeperidina

Qualsiasi forma stereoisomera delle sostanze iscritte nella presente tabella, in tutti i casi in cui possono esistere, salvo che ne sia fatta espressa eccezione. Gli esteri e gli eteri delle sostanze iscritte nella presente tabella a meno che essi non figurino in altre tabelle, compresi i sali dei suddetti isomeri, esteri ed eteri in tutti i casi in cui questi possono esistere.

Dalla presente tabella è espressamente esclusa la norefedrina (fenilpropanolamina, Denominazione chimica: (±) -2-amino-1-fenilpropan-1-olo) come da D.Lgs. n. 258/1996.

Sono espressamente escluse dalla presente tabella le sostanze: Destrometorfano e Destrorfano.

Tabella

TABELLA II SEZIONE A

NOTA: Sono ricomprese tutte le sostanze che hanno attività farmacologica e pertanto sono usate in terapia come medicinali.

I medicinali contrassegnati con [**] costituiscono l'allegato III-bis del testo unico. Il farmacista allestisce e dispensa preparazioni magistrali a base dei farmaci compresi nella presente tabella, da soli o in associazione con farmaci non stupefacenti, dietro presentazione di ricetta autocopiante, ad esclusione di quelle che, per la loro composizione quali-quantitativa, rientrano nella tabella II, sezione D o E.

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Acetildiidrocodeina	estere acetico del 6-idrossi-3-metossi-N-metil-4,5-epossimorfinano	
Alfentanil	N-[1-[2-(4-etil-4,5-diidro-5-ossi-1H-tetrazol-1-il)etil]-4-(metossimetil)-4-piperidinil]-N-fenil-propanamide	
Amobarbital	acido 5-etil-5-(3-metilbutil)barbiturico	acido 5-etil-5-isopentilbarbiturico
Buprenorfina [**]	21-ciclopropil-7-alfa-[(S)-1-idrossi-1,2,2-trimetil-propil]-6,14-endo-etan-6,7,8,14-tetraidrooripavina	
Ciclobarbitale	acido 5-(1-cicloesen-1-il)-5-etilbarbiturico	tetraidrofeno-barbitale; tetraidrogardenale
Codeina [**]	3-O-metilmorfina	
Destromoramide	(+)-4-[2-metil-4-osso-3,3-difenil-4-(1-pirrolidinil)butil]-morfolino	
Difenossilato	estere etilico dell'acido 1-(3-ciano-3,3-difenilpropil)-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	
Difenossina	acido 1-(3-ciano-3,3-difenilpropil)-4-fenilisonipecotico	
Diidrocodeina [**]	3-metossi-4,5-eossi-6-idrossi-N-metil-morfinano	
Dipipanone	4,4-difenil-6-piperidin-3-eptanone	Fenilpiperone
Eptabarbitale	acido 5-(1-cicloepten-1-il)-5-etilbarbiturico	
Etilmorfina	3-O-etilmorfina	
Fentanil [**]	1-feniletiletil-4-N-propionilanilino-piperidina	
Flunitrazepam	5-(orto-fluorofenil)-1,3-diidro-1-metil-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Folcodina	morfoniletilmorfina	Omocodeina
Glutetimide	2-etil-2-fenilglutarimide	
Idrocodone [**]	3-metossi-4,5-eossi-6-ossi-N-metil-morfinano	diidrocodeinone
Idromorfone [**]	3-idrossi-N-metil-6-ossi-4,5-eossi-morfinano	Diidromorfinone

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Ketamina	(±)-2-(2-clorofenil)-2-(metilamino) cicloesano	
Levorfanolo	(-)-3-idrossi-N-metilmorfinano	
Mecloqualone	3-(orto-clorofenil)-2-metil-4(3H)-chinazolinone	
Metadone [**]	6-dimetilamino-4,4-difenil-3-eptanone	
Metaqualone	3-(2-metilfenil)-2-metil-4(3H)-chinazolinone	
Metilfenidato	estere metilico dell'acido 2-fenil-2-(2-piperidil)-acetico	fenilidato
Morfina [**]	7,8-deidro-4,5-epossi-3,6-diidrossi-N-metilmorfinano	
Nicocodina	6-nicotinilcodeina	
Nicodicodina	6-nicotinildiidrocodeina	NDHC
Norcodeina	N-demetilcodeina	
Ossicodone [**]	14-idrossidiidrocodeinone	
Ossimorfone [**]	14-idrossidiidromorfinone	
Pentobarbital	acido 5-etil-5-(1-metilbutil)barbiturico	
Petidina	estere etilico dell'acido 1-metil-4-fenilpiperidin-4-carbossilico	meperidina
Propiram	N-(1-metil-2-piperidinoetil)-N-2-piridilpropionamide	
Remifentanil	estere metilico dell'acido 1-(2-metossi carboniletil)-4-(fenilpropionilamino)-piperidin-4-carbossilico	
Secobarbital	acido 5-allil-5-(1-metilbutil)barbiturico	
Sufentanil	N-[4-(metossimetil)-1-[2-(2-tienil)-etil]-4-piperidil] propioanilide	
Tebaina	6,7,8,14-tetradeidro-4,5alfa-epossi-3,6-dimetossi-17-metilmorfinano	paramorfina
Tiofentanil	N-1-[2-(2-tienil)etil]-4-piperidil] propioanilide	
Zipeprolo	alfa-(alfa-metossibenzil)-4-(beta-metossifeniletil)-1-piperazina etanolo	

Qualsiasi forma stereoisomera delle sostanze iscritte nella presente tabella, in tutti i casi in cui possono esistere, salvo che ne sia fatta espressa eccezione. Gli esteri e gli eteri delle sostanze iscritte nella presente tabella, a meno che essi non figurino in altre tabelle, in tutti i casi in cui questi possono esistere. I sali delle sostanze iscritte nella presente tabella, compresi i sali dei suddetti isomeri, esteri ed eteri in tutti i casi in cui questi possono esistere.

Tabelle

TABELLA II SEZIONE B

Il farmacista allestisce e dispensa preparazioni magistrali a base dei farmaci compresi nella presente tabella, da soli o in associazione con altri farmaci non stupefacenti, dietro presentazione di ricetta da rinnovarsi volta per volta.

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Acido 5-etil-5-crotilbarbiturico		
Acido gamma-idrossibutirrico (GHB)	acido 4-idrossibutirrico	
Alazepam	7-cloro-1,3-diidro-5-fenil-1-(2,2,2-tifluoroetil)-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Allobarbitale	acido 5,5-diallilbarbiturico	
Alossazolam	10-bromo-11b-(orto-fiuorofenil)-2,3,7,11b-tetraidroossazolo[3,2-d][1,4]benzodiazepin-6(5H)-one	
Alprazolam	8-cloro-1-metil-6-fenil-4H-s-triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepina	
Amfepramone	2-(dietilamino)propiofenone	dietilpropione
Amineptina	7[(10,11-diidro-5H-dibenzo[a,d]ciclopten-5il)amino]acido eptanoico	
Aprobarbitale	acido 5-allil-5-isopropilbarbiturico	
Barbexaclone	fenobarbitale propilesedrina	
Barbitale	acido 5,5-dietilbarbiturico	dietilmalonilurea
Benzfetamina	N-benzil-N,alfa-dimetilfeniletilamina	N-benzil-N-metilamfetamina
Brallobarbitale	acido 5-allil-5-(2-bromoallil)barbiturico	
Bromazepam	7-bromo-1,3-diidro-5-(2-piridil)-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Brotizolam	2-bromo-4-(orto-clorofenil)-9-metil-6H-tieno[3,2-f]-s-triazolo [4,3-a] [1,4] diazepina	
Butalbital	acido 5-allil-5-isobutilbarbiturico	
Butallilonale	acido 5-(2-bromoallil)-5-sec-butilbarbiturico	sonbutal
Butobarbitale	acido 5-butil-5-etilbarbiturico	
Butorfanolo	(-)-N-ciclobutilmetil-3,14-diidrossimorfina	
Camazepam	7-cloro-1,3-diidro-3-(N,N-dimetilcarbamoil)1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Clobazam	7-cloro-1-metil-5-fenil-1H-1,5-benzodiazepin-2,4(3H,5H)-dione	

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Clonazepam	5-(orto-clorofenil)-1,3-diidro-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Clorazepato	acido 7-cloro-2,3-diidro-2-ossi-5-fenil-1H-1,4-benzodiazepin-3-carbossilico	
Clordiazepossido	7-cloro-2-metilamino-5-fenil-3H-1,4-benzodiazepina 4-ossido	metaminodiazepossido; clorossido
Clossazolam	10-cloro-11b-(orto-clorofenil)-2,3,7, 11b-tetraidro-ossazolo-[3,2-d] [1,4]benzodiazepin-6(5H)-one	
Clotiazepam	5-(orto-clorofenil)-7-etil-1,3-diidro-1-metil-2H-tieno[2,3-e]-1,4-diazepin-2-one	
Delorazepam	7-cloro-5-(orto-clorofenil)-1,3-diidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	clordemetildiazepam
Delta-9- tetraidrocannabinolo	(6aR, 10aR) -6a,7,8,10a - tetraidro-6,6,9 - trimetil - 3 - pentil - 6H - dibenzo[b,d]piran - 1 - olo	
Destropropossifene	alfa-(+)-4-dimetilamino-1,2-difenil-3-metil-2-butanol propionato	
Diazepam	7-cloro-1,3-diidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Estazolam	8-cloro-6-fenil-4H-s-triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepina	
Etil loflazepato	estere etilico dell'acido 7-cloro-5-(2-fluorofenil)-2,3-diidro-2-ossi-1H-1,4-benzodiazepin-3-carbossilico	
Etinamato	1-etilcicloesanolcarbamato	carbamato di 1-etil cicloesile
Etizolam	4-(2-clorofenil)-2-etil-9-metil-6H-tieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]diazepina	
Fencamfamina	N-etil-3-fenil-2-norbomanamina	2-etilamino-3-fenil-norcanfano
Fendimetrazina	(+)-(2S,3S)-3,4dimetil-2-fenilmorfolina	
Fenobarbital	acido 5-etil-5-fenilbarbiturico	
Fenproporex	(±)-3-[(alfa-metilfenilettil)amino]propionitrile	
Fentermina	alfa,alfa-dimetilfenilettilamina	
Fludiazepam	7-cloro-5-(orto-fluorofenil)-1,3-diidro-1-metil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	

Tabelle

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Flurazepam	7-cloro-1-[2-(dietilamino)etil]-5-(orto-fluorofenil)-1,3-diidro-2H 1,4-benzodiazepin-2-one	
Ketazolam	11-cloro-8,12b-diidro-2,8-dimetil-12b-fenil-4H-[1,3]ossazino[3,2-d][1,4]benzodiazepin-4,7(6H)-dione	
Lefetamina	(-)-N,N dimetil-1,2-difenilettilamina	SPA
Loprazolam	6-(orto-clorofenil)-2,4-diidro-2-[(4-metil-1-piperazinil)metilene]-8-nitro-1H-imidazo[1,2-a][1,4]benzodiazepin-1-one	
Lorazepam	7-cloro-5-(orto-clorofenil)-1,3-diidro-3-idrossi-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Lormetazepam	7-cloro-5-(orto-clorofenil)-1,3-diidro-3-idrossi-1-metil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	N-metillorazepam
Mazindolo	5-(para-clorofenil)-2,5-diidro-3H-imidazo[2, 1-a]isoindol-5-olo	
Medazepam	7-cloro-2,3-diidro-1-metil-5-fenil-1H-1,4-benzodiazepina	
Mefenorex	N-(3-cloropropil)-alfa-metilfenilettilamina	
Meprobamato	2-metil-2-propil-1,3-propandiolo dicarbamato	estere dicarbamico del 2-metil-2-propil-1,3-propan-diolo
Metarbitale	acido 5,5-dietil-1-metilbarbiturico	
Metilfenobarbitale	acido 5-etil-1-metil-5-fenilbarbiturico	
Metiprilone	3,3-dietil-5-metil-piperidin-2,4-dione	
Midazolam	8-cloro-6-(orto-fluorofenil)-1-metil-4H-imidazol[1,5-a] [1,4]benzodiazepina	
Nabilone	3 - (1,1- dimetileptil)- 6,6a,7,8,10,10a - esaidro - 1 - idrossi - 6, 6 - dimetil - 9 H - dibenzo [b,d] piran - 9 - one	
Nimetazepam	1,3-diidro-1-metil-7-nitro-5-fenil-2H-1,4benzodiazepin-2-one	
Nitrazepam	1,3-diidro-7-nitro-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Nordazepam	7-cloro-1,3-diidro-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	desmetildiazepam; mordiazepam
Ossazepam	7-cloro-1,3-diidro-3-idrossi-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	

DENOMINAZIONE COMUNE	DENOMINAZIONE CHIMICA	ALTRA DENOMINAZIONE
Ossazolam	10-cloro-2,3,7,11b-tetraidro-2-metil-11b-fenilossazolo[3,2-d][1,4]benzodiazepin-2-one	
Pentazocina	(2R,6R,11R)-1,2,3,4,5,6-esaidro-6,11-dimetil-3-(3-metil-2-butenil)-2,6-metano-3-benzazocin-8-olo	
Pinazepam	7-cloro-1,3-diidro-5-fenil-1-(2-propinil)-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Pipradrolo	1,1-difenil-1-(2-piperidil)-metanolo	
Pirovalerone	1-(4-metilfenil)-2-(1-pirrolidinil)-1-pentano	
Prazepam	7-cloro-1-(ciclopropilmetil)-1,3-diidro-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Propilesedrina	1-cicloesil-2-metilaminopropano	
Quazepam	7-cloro-5-(2-fluorofenil)-1,3-diidro-1-(2,2,2-trifluoroetil)-2H-1,4-benzodiazepin-2-tione	
Secbutabarbitale	acido 5-sec-butil-5-etilbarbiturico	
Temazepam	7-cloro-1,3-diidro-3-idrossi-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	N-metilossazepam; 3-idrossi diazepam
Tetrabamato (associazione molecolare di fenobarbital, febarbamato e diferbarbamato)		
Tetrazepam	7-cloro-5-(1-cicloesen-1-il)-1,3-diidro-1-metil-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	
Trans- delta- 9-tetraidrocannabinolo		Dronabinol
Triazolam	8-cloro-6-(orto-clorofenil)-1-metil-4H-s-triazolo[4,3-a] [1,4]benzodiazepina	
Vinilbital	acido 5-(1-metilbutil)-5-vinilbarbiturico	
Zaleplon	N-[3-(3-cianopirazolo[1,5-a]pirimidin-7-il)fenil]-N-etilacetamide	
Zolpidem	N,N-6-trimetil-2-(4-metilfenil)-imidazo[1,2-a]piridin-3-acetamide	
Zopiclone	estere 6-(5-cloro-2-piridinil)-6,7-diidro-7-ossi-5H-pirrolo-[3,4-b]-pirazin-5-ilico dell'acido 4-metil-1-piperazincarbossilico	

I sali delle sostanze iscritte nella presente tabella, in tutti i casi in cui questi possono esistere.

Tabelle

TABELLA II SEZIONE C

BARBEXACLONE

DESTROPROPOSSIFENE

FENOBARBITAL

PENTAZOCINA

TABELLA II SEZIONE D

Composizioni ad uso diverso da quello parenterale, le quali in associazione con altri principi attivi o in quantità totale per confezione non superiore alla dose massima delle 24h (FU Tabella n. 8) contengono acetildiidrocodeina, codeina [**], diidrocodeina [**], etilmorfina, folcodina, nicocodina, nicodicodina, norcodeina e loro sali per un quantitativo complessivo delle suddette sostanze, espresso come base anidra, compreso tra l'1 per cento e il 2,5 per cento inclusi o per le composizioni monodose una quantità superiore a 0,010 g per unità di somministrazione per via orale o a 0,020 g per unità di somministrazione per via rettale, fino ad un massimo di 0,100 g per unità di somministrazione e comunque in quantità totale, per ciascuna confezione, non superiore a 0,500 g delle suddette sostanze; le suddette composizioni debbono essere tali da impedire praticamente il recupero dello stupefacente con facili ed estemporanei procedimenti estrattivi.

Composizioni ad uso diverso da quello parenterale, le quali in associazione con altri principi attivi o in quantità totale per confezione non superiore alla dose massima delle 24 ore (Tabella n. 8 della Farmacopea ufficiale della Repubblica italiana), contengono ossicodone e suoi sali per un quantitativo complessivo della suddetta sostanza, espresso come base anidra, inferiore al 2,5 per cento incluso per le composizioni multidose o per le composizioni monodose una quantità non superiore a 0,010 g per unità di somministrazione per via orale o non superiore a 0,020 g per unità di somministrazione per via rettale, e comunque in quantità totale, per ciascuna confezione, non superiore a 0,300 g della suddetta sostanza. Le suddette composizioni debbono essere tali da impedire praticamente il recupero dello stupefacente con facili ed estemporanei procedimenti estrattivi.

Composizioni ad uso diverso da quello parenterale, le quali in associazione con altri principi attivi non stupefacenti, contengono alcaloidi totali dell'oppio con equivalente ponderale in morfina, espresso come base anidra, non superiore allo 0,05 per cento; le suddette composizioni debbono essere tali da impedire praticamente il recupero dello stupefacente con facili ed estemporanei procedimenti estrattivi.

Composizioni di difenossilato contenenti, per unità di dosaggio, come massimo 2,5 mg di difenossilato calcolato come base anidra e come minimo una quantità di solfato di atropina pari all'1 per cento della quantità di difenossilato.

Composizioni di difenossina contenenti, per unità di dosaggio, come massimo 0,5 mg di difenossina e come minimo una quantità di atropina pari al 5 per cento della quantità di difenossina.

Composizioni che contengono, per unità di somministrazione, non più di 0,1 g di propiram mescolati ad una quantità almeno uguale di metilcellulosa.

Composizioni per uso parenterale contenenti:

CLORDEMETILDIAZEPAM (DELORAZEPAM)

DIAZEPAM

LORAZEPAM

MIDAZOLAM

TABELLA II SEZIONE E

Composizioni ad uso diverso da quello parenterale, le quali in associazione con altri principi attivi o in quantità totale per confezione non superiore alla dose massima delle 24 h (F.U. Tabella n. 8) contengono acetildiidrocodeina, codeina, diidrocodeina, etilmorfina, folcodina, nicocodina, nicodicodina, norcodeina e loro sali per un quantitativo complessivo delle suddette sostanze, espresso come base anidra, inferiore all'1% p/p per le composizioni multidose, o per le composizioni monodose una quantità non superiore a 0,010 g per unità di somministrazione per via orale o a 0,020 g per unità di somministrazione per via rettale, e comunque in quantità totale, per ciascuna confezione, non superiore a 0,250 g delle suddette sostanze; le suddette composizioni debbono essere tali da impedire praticamente il recupero dello stupefacente con facili ed estemporanei procedimenti estrattivi.

Composizioni le quali, in associazione con altri principi attivi, contengono i barbiturici od altre sostanze ad azione ipnotico sedativa comprese nelle tabelle II sezione A e II sezione B.

Composizioni ad uso diverso da quello parenterale contenenti:

ALAZEPAM
ALPRAZOLAM
BROMAZEPAM
BROTIZOLAM
CLOBAZAM
CLONAZEPAM
CLORAZEPATO
CLORDIAZEPOSSIDO
CLOTAZEPAM
DELORAZEPAM
DIAZEPAM
ESTAZOLAM
ETIZOLAM
FLURAZEPAM
KETAZOLAM
LORAZEPAM
LORMETAZEPAM
MEDAZEPAM
MEPROBAMATO
MIDAZOLAM
NIMETAZEPAM
NITRAZEPAM
NORDAZEPAM
OSSAZEPAM
OSSAZOLAM
PINAZEPAM
PRAZEPAM
QUAZEPAM
TEMAZEPAM
TETRAZEPAM
TRIAZOLAM
ZALEPLON
ZOLPIDEM
ZOPICLONE.

Composizioni medicinali per uso diverso da quello iniettabile che contengono Destropropossifene in associazione con altri principi attivi.

Tabelle

TABELLA N. 8

Dosi dei medicinali per l'adulto, oltre le quali il farmacista non può fare la spedizione, salvo il caso di dichiarazione speciale del medico (art. 34, comma 3 e art. 40 del Regolamento per il Servizio Farmaceutico approvato con R.D. 30 settembre 1938, n. 1706).

(Il controllo delle dosi e la conseguente dichiarazione in caso di iperdosaggio è riferibile ai preparati estemporanei e non ai medicinali di origine industriale per i quali la "sicurezza del dosaggio", anche in relazione agli eventuali limiti stabiliti per le sostanze correlate, è stata accertata in sede di registrazione dall'Autorità competente.)

* Le sostanze contrassegnate con un asterisco hanno, nella sezione NOTE, alcune informazioni supplementari. Per facilitare la consultazione di tale sezione, l'elenco delle sostanze viene presentato in ordine alfabetico.

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Acamprosato calcico *	per os	–	–	–	1,33
Acebutololo cloridrato	per os	0,1-0,2	0,4	0,4	1,2
Aceclofenac	per os	–	–	–	0,100
Acetazolamide	per os i.m. o e.v.	0,25 0,25	0,75 0,50	0,50 0,50	1 1
Acetilcisteina	per os sol. al. (20-10%) per aerosol e.v. lenta (g/kg) (Intossicazione da paracetamolo)	0,2-0,4 0,4 1,0 0,07-0,15	1,0 4,0 –	1,0 0,2-2 –	1,0 10 0,3
Acetilcolina cloruro	top. (oft.)	–	–	0,5-2 ml di una soluzione fresca 1%	
Acetildiidrocodeina (come base anidra)	per os	0,01-0,02	0,06	0,06	0,180
Aciclovir	e.v. lenta per os top. 3-5%	0,35 0,2-0,4 –	1,0 1,0 –	0,7 0,8 –	2,0 4,0 –
Acido acetilsalicilico *	per os	0,5	1-2	1	6
Acido amidotrizoico (come Iodio)	e.v. lenta	–	20	–	1/kg
Acido aminocaproico	e.v. lenta per os	4-5 2-4	8-10 16	6	30 30
Acido ascorbico	per os o s.c. o i.m. e.v.	0,10-0,50 0,50-1	0,50-1 0,50-1	– –	– –
Acido chenodesossicolico	per os	–	–	–	0,0175/kg
Acido deidrocolico	per os	0,25	0,75	0,50	1,50
Acido etacrinico *	per os infusione e.v.	–	–	0,050	0,150 0,050
Acido folico	per os i.m.	0,005 0,005	0,02 0,01	0,01 0,01	0,05 0,02
Acido fusidico	top. per os (ad.) per os (ped. < 1 a.) idem (1-5 a.)	pom. ung. cr. o gel 0,2% 0,5 0,015 0,25	2 v. 1,5 0,05 0,75	idem 1 0,03 0,5	3-4 v. 1,5 0,075 1
Acido glutammico	per os	0,3	0,6	0,6	1,8
Acido iopanoico *	per os	1,0-3,0	2,0-6,0	3	6
Acido iotalamico	e.v. lenta	Sol. al 70% di sale sodico o al 60% di sale di meglumina o di miscela dei due			
Acido ioxaglico *	e.v.	–	–	5ml/kg	5ml/kg

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Acido mefenamico	per os	–	–	0,500	1,5
Acido nalidixico	per os	0,50	2	1	4
Acido nicotinic	per os s.c. e.v.	0,05-0,20 0,05-0,10 0,05-0,10	0,30 0,30 0,20	0,30 0,20 0,20	1 1 1
Acido ossolinico *	per os	–	–	0,75	1,5
Acido pipemidico triidrato	per os	–	–	0,471	0,942
Acido salicilico	top.	pom. (crema, ungu., gel, ecc.), loz., cerotto, shampoo, sapone, ecc. 1%, 2%, 4%, 25%, 40%, 60%			
Acido tiaprofenico	per os rett.	–	–	0,6 0,3	0,6 0,6
Acido tolfenamico	per os	–	–	0,2	0,6
Acido tranexamico *	per os e.v. lenta	– –	– –	0,025/kg 0,015/kg	0,1/kg 0,045/kg
Acido tricloroacetico	top.	–	–	50%	
Acido undecilenico	top.	ung. 5% (in ass. con Zn undecilenato); polv. 2-5% (idem); aerosol 2% (idem)			
Acido ursodesossicolico	per os	–	–	–	0,012/kg
Acido valproico	per os	–	–	0,030/kg	0,060/kg
Acitretina *	per os	–	–	0,025	0,075
Aconitina	per os	0,0001	0,0002	0,0002	0,0005
Adenina	per os	0,015-0,03	0,15	0,03-0,06	0,3
Adenosina *	e.v. rapida	–	–	0,012	0,021
Adrenalina cloridrato	i.m. o s.c.	0,0002-0,001	0,001	0,001	0,003
Adrenalina tartrato acido	i.m. o s.c.	0,0002-0,001	0,001	0,001	0,003
Ajmalina	per os	0,05-0,10	0,15-0,60	0,30	0,60
Ajmalina monoetanolato	per os i.m. o e.v.	0,05-0,10 0,05-0,10	0,15-0,30 0,20	– –	0,40 0,20
Alanina	fleboclisi	In combinazione con altri amminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale			
Albendazolo *	per os	–	–	0,4	0,4
Alcool isopropilico	top.	sol. al 70%	–	–	–
Alcuronio cloruro	e.v.	–	–	0,000250/kg	0,000300/kg
Alfacalcidolo *	per os	–	–	–	0,000001
Alfentanile cloridrato *	e.v.	0,1	0,2	–	–
Alfuzosina cloridrato *	per os	–	–	0,0025	0,010
Allobarbitale	per os	0,10-0,20	0,20	0,20	0,30
Allopurinolo	per os	0,10-0,20	0,20-0,60	0,30	0,80
Alluminio cloruro esaidrato	top.	sol. al 20%	–	–	–
Alluminio ossido idrato	per os	0,50-1	2	1	4

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Alluminio ossido, idrato *	per os	–	–	0,200	10
Alofantrina idrocloruro	per os	–	–	0,5	2
Aloe	per os	0,10	0,20	0,20	0,30
Aloperidolo	per os o i.m. o e.v.	0,0005-0,005	0,001-0,015	–	0,10
Aloperidolo decanoato *	i.m. profonda	–	–	0,1	0,3
Alotano	inal.	In conc. 0,5-2% con ossigeno o protossido d'azoto			
Alprazolam	per os	0,00025-0,0005	0,00075-0,0015	–	0,004-0,001
Alprenololo benzoato	per os	0,06-0,12	0,24-1	–	–
Alprenololo cloridrato	per os	0,05-0,1	0,2-0,4	0,1-0,2	0,8
Alprostadil	e.v. continua intracavernosa	–	–	50×10 ⁻⁹ /kg/min 0,000060	100×10 ⁻⁹ /kg/min 0,000060
Alteplase per preparazione iniettabile *	e.v.	–	–	0,1	0,1
Amantadina cloridrato *	per os	0,1	0,2	0,2	0,4
Ambroxolo cloridrato *	per os per os ped. scir. i.m. o e.v.	0,03-0,75 (rit.) 0,00375-0,0075 0,015	0,09-1,5 (rit.) 0,0075-0,015 0,03	0,06 0,0075 0,03	0,09 0,015 0,045
Amfepramone	per os per os rit.	0,025 0,075	0,075 0,075-0,15	0,05 0,075	0,15 0,15
Amfetamina solfato	per os i.m. o e.v.	0,0025 0,005	0,01 0,01	0,01 0,01	0,02 0,02
Amfotericina B *	e.v. i.t. per os top.	– – – –	– – – –	0,000250/kg 0,00025 0,2 3%	0,0015/kg 0,015 0,8
Amikacina *	i.m. e.v. lenta	– –	– –	0,015/kg 0,500	1,5 0,500
Amikacina solfato	i.m. e.v. lenta	– –	– –	0,020/kg 0,7	2,0 0,7
Amile nitrito	inalaz.	0,10	0,30	0,20	0,50
Amiloride cloridrato	per os	0,005-0,01	0,02	0,03	0,03
Aminofenazone	per os	0,30	1	0,50	2
Aminofillina	Vedi teofillina-etilendiammina				
Aminoglutetimide	per os	–	–	0,25	1
Aminosidina solfato	per os i.m.	0,25 0,50	1-2 1-1,50	– –	– –
Amiodarone cloridrato *	per os e.v. o fleboclisi	0,2 0,005/kg	0,6 0,01-0,015/kg	0,4 –	1,6 1,2
Amisulpride	per os i.m.	– –	– –	– –	1,2 0,4
Amitriptilina cloridrato *	per os i.m.	0,025 (22) 0,02-0,03	0,05-0,10 0,08-0,12	– –	0,15-0,30 0,12
Amlodipina besilato	per os	–	–	–	0,0138

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Ammonio cloruro	per os	0,30-1	2	2	6
Amobarbital	per os	0,05-0,10	0,20	0,20	0,40
Amobarbital sodico	per os i.m. o s.c.	0,05-0,10 0,25-0,50	0,20 -	0,30 -	0,50 -
Amoxicillina sodica (come amoxicillina) *	i.m.	0,25-0,50	0,75-1,5	0,50	4,5
Amoxicillina triidrato * (come amoxicillina)	per os	0,25-0,50	0,75-1,5	-	5,15
Ampicillina	per os	0,25-0,50	2	0,50	3
Ampicillina sodica	i.m. o e.v. lenta	0,50	2	1	3
Ampicillina triidrato		-	-	Come ampicillina	
Antazolina cloruro	top. (oftalm.)	sol. allo 0,5%	crema al 2%	-	-
Antazolina solfato (o cloridrato) *	inst. o inal. per os	0,00025-0,0005 0,05	0,001 0,10-0,30	- -	0,0025 0,30-0,60
Antimonio e potassio tartrato	e.v.	0,03	-	0,14	-
Antitrombina III umana concentrata liofilizzata	e.v. lenta	50 (U./min)	3.000 (U. totali)	-	6.000 (U. totali)
Apomorfina cloridrato *	s.c.	0,002-0,005	-	0,005	-
Aprotinina *	e.v. lenta o fleboclisi	fino a 1.000.000 U.	-	-	-
Arginina	e.v. lenta	10	30	10	30
Arginina cloridrato	e.v. lenta	10	30	10	30
Articaina cloridrato	locale	-	-	0,072	0,144
Ascorbile palmitato	per os	-	-	-	0,087
Astemizolo	per os	0,01	0,01	0,01	0,01
Atenololo	per os e.v.	0,05-0,1	0,05-0,1	0,2	0,2
		In caso di emergenza la dose e.v. è da 0,0025 a 0,001 per minuto ripetuta, se necessario, ogni 5 min fino ad un massimo di 10 mg			
Atracurio besilato	e.v. o fleboclisi lenta	Da 0,0003 a 0,0006/kg. Se necessario a dosi successive di 0,0001-0,0002/kg			-
Atropina solfato *	per os s.c. o i.m.	0,00025-0,0005 0,00025-0,0005	0,001 0,001	0,001 0,001	0,003 0,002
Azatioprina *	per os o e.v.	0,001-0,005/kg o 0,12/m ²		-	-
Azelastina cloridrato	intranasale	-	-	0,000280	0,000560
Azitromicina *	per os	-	-	2	2
Bacampicillina cloridrato	per os	0,4-0,8%	1,2-1,6	0,8	2,4
Bacitracina *	per os i.m.	20.000 U. 10.000 U.	80.000 U. 30.000 U.	30.000 U. 30.000 U.	120.000 U. 100.000 U.
Bacitracina zinco *	top.	sol., sosp., polv., pom., aerosol, past., ecc. 10.000-100.000 U.-%			-

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Baclofene	per os	0,005 - 0,015	0,015	0,02	0,06
		Dosi superiori da 0,08 a 0,1 richiedono una sorveglianza ospedaliera			
Bambuterolo cloridrato *	per os	–	–	0,020	0,020
Barbital	per os	0,25-0,50	0,50	0,50	1,50
Barbital sodico	per os	0,25-0,50	0,50	0,50	1
Beclometasone dipropionato *	inal.	0,0001-0,0006	0,0003-0,0008	0,0006-0,0008	0,001
Belladonna estratto secco	per os	0,01	0,03	0,03	0,10
Belladonna foglia	per os	0,03	0,10	0,10	0,30
Bendroflumetiazide	per os	0,0025-0,005	0,01	–	–
Benfluorex cloridrato *	per os	–	–	0,150	0,450
Benperidolo *	per os	–	–	–	0,0015
Benserazide cloridrato *	per os	–	–	0,025	0,150
Benzalconio cloruro	top.	soluzione all'1% - sciacqui orali 0,0005		–	–
Benzbromarone	per os	–	–	0,050	0,2
Benzetonio cloruro	top.	0,2-0,5%	0,2-0,5%	–	–
Benzilpenicillina benzatinica	i.m.	300.000-1.000.000 U.	–	3.000.000 U.	–
Benzilpenicillina potassica e sodica	i.m. fleboclisi	300.000-500.000 U. –	2.000.000 U. 6.000.000 U.	– –	– 40.000.000 U.
Benzilpenicillina procainica	i.m.	500.000 U.	1.000.000 U.	500.000 U.	1.000.000 U.
Benzocaina	top. rett.	pom. 3-5%; sol. 3%; past. 0,01-0,04 0,1-0,2		– –	– –
Benzoile perossido idrato	top.	2-10%	2-10%	–	–
Betacarotene	per os	0,03-0,3	0,03-0,3	–	0,005/kg
Betaistina mesilato	per os	0,016	0,016-0,048	0,024	0,048
Betametasona	per os	0,005	0,0015	0,001	0,004
Betametasona acetato	per os	0,001	0,005	–	0,009
Betametasona dipropionato *	inal.	0,0001-0,0006	0,0003-0,0008	0,0006-0,0008	0,001
Betametasona sodio fosfato	e.v. o i.m.	0,004	0,008	–	0,02
Betametasona valerato	top.	0,05%	0,1%	–	–
Betanidina solfato *	per os	0,01-0,08	0,02-0,20	0,04	0,25
Betaxololo cloridrato	per os top. (oft.)	0,01	0,01-0,02	0,02	0,04
		soluzione allo 0,5%			
Bezafibrato	per os	–	–	0,2	0,6
Bifonazolo	top.	–	–	1%	
Biotina	per os	0,00003	0,00003-0,0001	0,0002	0,0002

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Biperidene cloridrato	per os	0,001	0,002	0,002	0,016
Bisacodile	per os rett.	0,005 0,01 (0,005 ped.)	0,01 (0,005 ped.) 0,02	0,01 0,01	0,03 0,02
Può essere somministrato anche come soluzione rettale alla dose di 0,005-0,01 e anche alla dose di 0,05-0,0015 in 1-3 l. di enema di bario.					
Bismuto canfocarbonato neutro	i.m.	0,05-0,10	–	0,20	–
Bismuto carbonato basico	per os	0,50	1,50	2	5
Bismuto gallato basico	top.	–	–	5%	
Bismuto nitrato basico	per os	0,50-1	1-3	2	5
Bismuto salicilato basico	i.m.	0,05-0,10	–	0,20	–
Bleomicina solfato	s.c. o i.m. o e.v.	0,015-0,06/kg per settimana	–	–	–
Bralobarbital	per os	0,05	0,15	0,1	0,3
Bromazepam *	per os	0,0015-0,003	0,010	0,006	0,018
Bromexina cloridrato *	per os inal. i.m. o e.v. lenta	0,008 sol. allo 0,2% per aerosol 2 ml 1 v. al di 0,004	0,024 0,008	0,016 0,004	0,048 0,012
Bromfeniramina maleato	per os s.c. o i.m. o e.v. lenta	0,004-0,008 0,005	0,016 0,020	– –	0,048 0,040
Bromocriptina mesilato *	per os	0,001 - 0,0025	0,005 - 0,015	0,0075	0,03
Bromoformio	per os	0,10	0,50	0,50	1,50
Bromosolfotaleina sodica *	e.v. lenta	–	0,005/kg	–	0,005/kg
Bromperidolo *	per os	–	–	0,015	0,080
Bromperidolo decanoato	i.m.	–	–	0,410	0,410
Budesonide	inal. (aerosol) inal. (polvere secca) spray nasale top. per os rett.	0,0002 0,0005 0,00005- 0,0001/narice pomata, unguento allo 0,025% 0,003 soluzione allo 0,002%	0,0004 0,002 0,0002/narice 0,009 –	0,0004 0,002 – – 0,003 –	0,0016 0,004 – – 0,009 –
Bufexamac	top.	–	–	5%	
Buflomedil cloridrato	per os i.m. e.v. e.v. infusione	– – – –	– – – –	0,3 0,1 0,2 0,4	0,6 0,1 0,2 0,4
Bumetanide *	per os i.m. o e.v.	0,001 0,001-0,002	0,002 0,002-0,005	– 0,002	0,04 0,005
Bupivacaina cloridrato *	s.c	2-4 ml sol. 0,25%	10-40 ml sol. 0,25%	–	–
Buprenorfina	i.m.; e.v. sublinguale	–	–	0,000600 0,000400	0,00240 0,00160

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Buprenorfina cloridrato *	i.m.	–	–	0,000644	0,00247
	e.v.	–	–		
	sublinguale	–	–	0,000430	0,00172
Buserelina	s.c. (per 7 giorni) spray nasale (dal giorno 8)	0,0005 0,0001/narice	0,0015 0,0006/narice	– 0,0003	0,0024 0,0012
Busulfano *	per os	0,001-0,002	0,001-0,012	–	–
Butalbarbital	per os	0,10-0,20	0,40	0,20	0,80
Butobarbital	per os	0,10	0,20	0,20	0,40
Caffeina	per os	0,10-0,25	0,50	0,50	1
Caffeina e benzoato di sodio	per os o s.c.	0,20-0,50	1	1	2
Calcifediolo *	per os	–	–	0,000050	0,000100
Calciferolo	per os	0,001	0,003	0,01	–
Calcio bromuro	per os	0,50-1	3	2	4
	e.v.	0,50	1	1	–
Calcio cloruro	per os	0,50-1	3	2	4
	e.v.	0,50-1	1	1	–
Calcio dobesilato monoidrato	per os	–	–	–	1
Calcio folinato	per os	0,015	0,06	0,015	0,06
	e.v. lenta o i.m.	0,015	0,06	–	0,1
Calcio fosfato dibasico	per os	0,50-1	4	–	–
Calcio fosfato tribasico	per os	0,50-1	4	–	–
Calcio glicerofosfato	per os	0,50-1	4	–	–
Calcio gluconato *	per os	1	5	–	–
	e.v.	0,50-1	1	2	–
Calcio lattato	per os	1	5	–	–
Calcio p-aminosalicilato	per os	2-4	10	4	20
Calcio pantotenato	per os o i.m. o s.c.	0,003	0,01	–	–
Calcitonina di salmone *	s.c. o i.m. o e.v.	50-100 U.	100-150 U.	400 U.	8 U./kg
Calcitonina porcina	s.c. o i.m.	0,5 U./kg	1-4 U./kg	8 U./kg	32 U./kg
	e.v.	50-100 U.	40-160 U.	–	260 U.
Calcitriolo	e.v. bolus	0,5 µg	0,001	–	0,003
	top	–	15 µg	–	15 µg
	per os	0,25-0,5 µg	2,0 µg	–	2 µg
Canfora racemica	s.c.	0,10-0,20	0,30-0,40	0,40	0,80
Captopril	per os	0,00625-0,005	0,0125-0,1	0,05-0,15	0,15-0,45
Carbacolo	per os	0,0005	0,001	0,001	0,004
	s.c.	0,00025	0,0005	0,0005	0,001
Carbamazepina *	per os	0,2	0,4-0,8	1,2	2

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Carbarsone	per os	0,10-0,25	0,20-0,50	0,25	0,75
Carbasalato calcico	per os	–	–	5,1	15,3
Carbencillina sodica (come carbencillina) *	i.m. o e.v.	3,5-5,5	21-40	6	42
Carbidopa	per os	E' somministrato in associazione con Levodopa come antiparkinsoniano			
Carbimazolo	per os	0,005-0,010	0,02	0,02	0,06
Carbocisteina	per os o i.m.	0,25 - 0,75	2,5	1	5
Carbonio tetracloruro	per os	2 ml	–	4 ml	–
Carboplatino	e.v. lenta (15 min-1 h)	0,36-0,4/m ² superficie corporea. Le dosi successive devono essere somministrate a non meno di 4 settimane di distanza			–
Carisoprodolo *	per os	–	–	0,350	1,4
Carmustina	e.v.	–	–	0,2/m ²	0,2/m ²
Carteololo cloridrato *	top. (oft.) per os	–	–	2% 0,030	– 0,030
Carvedilolo *	per os	–	–	0,025 - 0,050	0,050-0,1
Cascara sagrada estratto fluido	per os	0,25	0,50	0,50	2
Cefaclor	per os	0,25-0,5	2,0	0,5-1,0	4,0
Cefadroxile monoidrato (come cefadroxile)	per os	0,50-1	1-2	2	6
Cefadroxile	per os	0,5	1,0	1,0	2,0
Cefalexina	per os	0,25-0,50	1-2	0,50	6
Cefalexina sodica	i.m. o e.v.	1,0-0,2	2,0-8,0	4	8
Cefaloridina	i.m. o e.v.	0,25-1	1,50-3	2	4
Cefalotina sodica (come cefalotina) *	e.v. o i.m.	0,50-1	3-6	2	12
Cefamandolo nafato *	i.m. e.v. lenta	–	–	2,2	13,2
Cefapirina sodica (come cefapirina) *	e.v.	0,30-1,5	2-6	1,5	12
Cefapirina sodica *	i.m. o e.v.	–	–	1,05	12,60
Cefatrizina glicolepropilenico	per os	–	–	0,5	3
Cefazolina sodica (come cefazolina) *	i.m. o e.v.	0,25-1	1,50-6	1	12
Cefixima	per os	–	–	0,4	0,4
Cefoperazone sodico	i.m. ed infusione e.v.	–	–	3,2	12,6
Cefotaxima sodica	i.m. o e.v.	0,5-1,0	2,0	1,0-2,0	6,0
Cefoxitina sodica	i.m. o e.v.	1,0-2,0	3,0-6,0	2,0-3,0	12,0
Cefradina	per os o i.m. o e.v.	0,25	2,0	0,5-1,0	4,0-6,0
Ceftazidima *	i.m. e.v. lenta infusione e.v.	–	–	0,5-3	9
Ceftriaxone disodico	i.m. o e.v.	0,5-1,0	2,0	1,0-2,0	4,0

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Cefuroxima acetile *	per os e.v.	– –	– –	0,15 o 0,60 1,8	0,30 o 1,2 5,4
Celiprololo cloridrato *	per os	–	–	0,4	0,4
Cetilpiridinio cloruro	top.	sol 0,1% o 1% (prep. preoperatoria)		–	–
Cetirizina dicloridrato	per os	0,005	0,01	0,01	0,01
Cetrimide	top.	sol. 0,1-1%	–	–	–
Chimotripsina *	per os oft. top.	20.000-50.000 U. 0,00002-0,0001 pom. 2.000-50.000 U.%	80.000-150.000 U. 0,00004-0,0002 –	– – –	– 0,0002 –
Chinidina solfato	per os	0,20	0,60	0,40	2
Chinina cloridrato	per os i.m.	0,25 0,20	1 0,50	0,50 0,50	2 2
Chinina solfato	per os	0,25	1	0,50	2
Cianocobalamina *	i.m.	µg 5-100	–	–	–
Ciclizina cloridrato	per os	0,05	0,15	0,05	0,2
Ciclobarbitale	per os	0,20-0,30	0,30	0,50	0,75
Ciclofosfamide *	per os e.v.	0,001-0,005/kg nelle 24 ore		–	–
Ciclopentolato cloridrato	top. (oft) –	soluzione allo 0,5% per diagnostica 1 gt 1-2 gtt		– 2 gtt	– 8 gtt
Ciclopiprox olamina	top. vag.	–	–	1%	
Ciclopropano	inal.	In conc. 4-25% con ossigeno; conc. massima 30%			–
Cicloserina	per os	0,25	0,50-0,75	0,50	1
Ciclosporina *	per os e.v.	5-10 1-3mg/kg	– –	– –	8-18 2-6
Cilastatina sodica	i.m. e.v.	– –	– –	0,75 1	1,5 1
Cilazapril *	per os	–	–	0,001	0,005
Cimetidina *	per os e.v. lenta	0,20 0,20	0,60-0,80 0,60-0,80	0,4	1,6
Cinocaina cloridrato	top.	crema, unguento all'1%. soluzione allo 0,5%, in glucosio al 6%, per anestesia spinale.			
Cincofene	per os	0,25-0,50	1	0,5	1
Cinnarizina	per os	0,015-0,03	0,05-0,09	0,075	0,15
Ciproptadina cloridrato	per os	–	–	0,004	0,032
Ciprofibrato *	per os	–	–	0,1	0,1
Ciprofloxacina	per os e.v.	0,25 0,1-0,4	0,5 0,2-0,8	0,75 0,4	1,5 0,8
Ciproterone acetato *	per os	0,05	0,10-0,30	0,10	0,30
Cisapride tartrato	per os	–	–	0,020	0,080

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Cisplatino *	fleboclisi	0,015 - 0,120/m ²	0,120/m ²	0,02 - 0,120/m ²	0,120/m ²
Cistina	per os	0,5-1,0	2,0-4,0	–	–
Citarabina *	e.v. rapida e.v. lenta (fleboclisi)	0,002/kg 0,00025/kg	0,002/kg 0,001/kg	0,004/kg 0,001/kg	0,004/kg 0,001/kg
Claritromicina *	per os infusione e.v.	–	–	0,500 0,500	1 1
Clavulonato di potassio *	per os e.v.	–	–	0,149 0,238	0,447 1,430
Clebopride malato	per os i.m.-e.v.	–	–	0,00068 0,0014	0,0020 0,0014
Clemastina fumarato	per os i.m.-e.v. lenta	–	–	0,0013 0,0052	0,0078 0,0052
Clenbuterolo cloridrato	per os inal.	–	–	0,000040 0,000020	0,000080 0,000060
Clindamicina cloridrato (come clindamicina)	per os	0,15-0,45	0,60-1,8	0,45	1,8
Clindamicina fosfato *	i.m. o e.v.	0,3-0,6	0,6-1,2	1,2	2,4
Clioquinolo	top.	–	–	3%	
Clobazam *	per os	–	–	0,030	0,060
Clobetasone butirrato	top.	crema, unguento allo 0,05% - gtt. oft. allo 0,1%.			
Clofazimina	per os	–	–	0,300	0,300
Clofenotano *	top.	polv. aspersione 10%; emuls. 0,5-2%			
Clofibrato	per os	0,5	1,50	0,75	2,50
Clomifene citrato *	per os	0,05	0,05-0,25	0,10	0,10-0,25
Clomipramina cloridrato	per os	0,01	0,03	0,05	0,1
Clonazepam	per os e.v. o fleboclisi	0,001-0,002 0,001	0,004-0,008 0,002-0,003	0,008 –	0,004-0,008 0,003
Clonidina cloridrato *	per os e.v.	0,00005-0,0001 0,00015	0,00015-0,0004 0,00015-0,0003	0,0002 –	0,0024 0,0003
Cloralio idrato	per os	1	3	2	6
Clorambucile *	per os	0,001-0,002	0,004-0,01	0,004	0,01
Cloramfenicolo	per os	0,25-0,50	1,50-2	1	3
Cloramfenicolo palmitato	per os	0,50-1	2	1,50	3
Cloramfenicolo sodio succinato (come cloramfenicolo)	i.m. o e.v.	0,75-1	3-4	–	6-7
Clorammina	top.	sol. 0,2-2%	–	–	–
Clorazepato dipotassico	per os o e.v.	0,005-0,01	0,015	0,01	0,02
Clorciclizina cloridrato	per os	0,025-0,05	0,10	0,05	0,20
Clordiazepossido *	per os	0,01	0,03	0,02	0,08
Clordiazepossido cloridrato	per os i.m. o e.v. lenta	0,01 0,01	0,02 –	0,025 –	0,05 –

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Clorexidina (acetato, dicloridrato, gluconato)	top.	Sol. allo 0,005% come disinfettante delle ferite. Sol. allo 0,5% come disinfettante o al 4% come detergente della pelle (pre-operatorio). Sol. allo 0,02% per irrigazioni. Sol. allo 0,2% per sciacqui boccali. Crema, gel fino all'1%. Polvere allo 0,5%. Gocce auricolari 0,05%.			–
Clorexidina diacetato	top. esterno	–	–	0,5%	
Clorfenamina maleato *	per os i.m. o e.v. o s.c.	0,002-0,012 0,005-0,04	0,024 0,04	0,012 0,04	0,024 0,04
Clorochina fosfato	per os	0,25	0,50	0,50	1
Clorotiazide	per os	0,50	1	0,50	2
Clorpromazina cloridrato	per os o i.m.	0,025	0,05	0,05	0,10
Clorpropamide	per os	0,25	0,50	–	–
Clorprotixene cloridrato	per os	0,015	0,045	–	–
Clortalidone	per os	0,10-0,20	0,20	–	–
Clortetraciclina cloridrato	per os	0,25	1	0,50	2
Clotrimazolo	top. vag.	crema all'1%. polvere all'1%. lozione all'1% crema al 2%: circa 5 alla sera per 3 giorni, tavolette da 0,1: da 1 a 2 tavolette per 6 giorni.			
Cloxacillina sodica (come cloxacillina)	per os i.m. e.v.	0,25-0,50 0,25 0,50	1-2 1 0,50-1	1 1 1	6 2 2
Clozapina	per os	–	–	0,15	0,9
Codeina *	per os	0,01-0,02	0,05	0,05	0,150
Codeina cloridrato diidrato	per os i.m.	–	–	0,010 0,150	0,2 0,150
Codeina fosfato sesquidrato	per os	0,01-0,03	0,06	0,06	0,21
Codeina fosfato emiidrato *	per os	0,01-0,015	0,06	0,06	0,20
Codergocrina mesilato *	per os	–	–	0,003	0,0045
Colchicina	per os	0,0005-0,001	0,002	0,001	0,004
Colecalciferolo	per os e.v.	0,00025-0,02 0,001	0,00025-0,005 0,001	0,005 0,001	0,01 0,001
Colecalciferolo dispersibile in acqua	per os	0,00001	0,00001	0,001	0,0025
Colestiramina *	per os	–	–	24	36
Colina cloruro	per os	0,50-1	1-3	–	–
Colistina solfato *	per os top	500.000 U. –	3.000.000 U. 1 %	3.000.000 U. –	18.000.000 U. –
Corticotropina	s.c. o i.m.	10-25 U.	40 U.	40 U.	100 U.
Cortisone acetato	per os o i.m.	0,025	0,10	0,10	0,40
Creosoto	per os	0,25	1	0,50	1,50
Crotamiton	top.	–	–	10%	
Dalteparina sodica	s.c. e.v.	– –	– –	5000 U 35 U/kg	5000 U 35 U/kg
Dapsone	per os	0,05-0,10	0,05-0,30	–	0,20-0,50

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Daunorubicina cloridrato *	e.v.	0,025-0,06/m ² nelle 24 ore per 2-3 giorni o 1 v. alla sett., o 0,0008-0,001/kg nelle 24 ore per 3-6 giorni.		0,45-0,55/m ²	
Decametonio ioduro *	e.v.	0,002-0,0025 (0,001/min)		–	–
Deferoxamina mesilato *	i.m. o e.v.	0,5-1,0	4,0	–	–
Demeclociclina	per os	0,15-0,30	0,60	0,30	1,20
Deptoprina citrato	per os	–	–	0,001	0,002
Dequalinio cloruro	per os. top.	– –	– –	0,025 0,5%	0,2
Desametasone	per os	0,0005-0,00075	0,0015	0,0015	0,005
Desametasone acetato *	i.m. i.artic.	0,008-0,016 0,004	0,032 0,016	0,016 0,016	0,04 0,032
Desametasone sodio fosfato	i.m. e.v. top. oft.	0,0005-0,008 0,0005-0,02 pomata allo 0,1% 3-4 volte al di pomata oftalmica allo 0,05%-collirio allo 0,1% (1 gtt. 4-6 volte al di)	0,032 0,032	0,016 0,006/kg –	0,04 0,5 –
Desclorfeniramina maleato	per os	–	–	0,002	0,012
Desipramina cloridrato *	per os	0,025-0,05	0,075-0,15	0,05	0,10-0,20
Deslanoside *	e.v.	0,0004-0,0008	0,0016	0,0008	0,002
Desmopressina	s.c. o i.m. o e.v. ped. nas.	0,000001 0,0000004 0,00001	0,000002 0,0000004 0,00002	0,000004 0,0000004 0,00002	0,000008 0,0000004 0,00004
Desossicorticosterone acetato	i.m.	0,002-0,005	0,005	0,01	0,02
Destrano per iniezione	e.v.	50	100	–	–
Destrometorfano bromidrato	per os	0,015-0,03	0,06-0,12	–	0,12
Destromoramide tartrato	per os i.m. rett.	0,007 0,007 0,014	0,007 0,007 0,014	0,007 0,007 0,014	0,028 0,021 0,014
Destropropoxifene	per os rett. i.m. o e.v.	0,03-0,06 0,03-0,075 0,075	0,06-0,24 0,075-0,225 0,075-0,15	0,06 0,075 0,075	0,24 0,30 0,15
Destropropoxifene cloridrato *	per os rett. rett. ped. i.m. o e.v.	0,03 0,075 0,03 0,075	0,06 0,015 0,03 0,075	0,06 0,015 0,06 0,15	0,12 0,225 0,06 0,15
Dexpantenolo *	i.m., e.v. lenta top.	0,25-0,5 2%	0,5 –	– –	– –
Dextrano 1 per preparazioni iniettabili *	e.v.	–	–	20 ml di sol 0,150/ml	
Diazepam *	per os (i.m.) o e.v.	0,002-0,01 0,005-0,02	0,004-0,04 0,03-0,04	0,01 0,02	0,04 0,1
Diazossido *	per os	0,05-0,075	0,15-0,5	0,25	1
Dicicloverina cloridrato	per os i.m.	– –	– –	0,020 0,020	0,120 0,080
Diclofenac potassio	per os	–	–	0,100	0,150

Tabella

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Diclofenac sodico *	per os i.m. o e.v. rett.	0,05-0,1 0,075 -	0,15 - -	0,1 - -	- 0,15 -
Dicloxacillina sodica (come dicloxacillina)	per os i.m.	0,125-1 0,25-1	1-4 1-4	0,50 -	6 6
Dienestrololo *	per os	0,005-0,001	0,002-0,005	-	-
Dietilamide nicotinic	per os o i.m. o e.v.	0,25-0,35 -	0,75-1 -	0,50 -	1,50 -
Dietilcarbamazina citrato *	per os	0,02	0,06	0,12	0,72
Dietilstilbestrolo *	per os vag.	0,0001-0,0002 0,0001-0,0005	0,0002-0,015 0,001	0,0005 0,0005	0,003-0,015 0,002
Difenidramina cloridrato	per os	0,025	0,05	0,05	0,10
Difenoxilato cloridrato (con atropina)	per os	0,005	0,02	-	0,02
Diflunisal *	per os	0,2-0,4	0,8	-	-
Digitale foglia *	per os	0,05-0,10	0,30-0,60	0,30	1,2
Digitossina *	per os i.m. o e.v.	0,0001 0,0001-0,00025	0,00025-0,0005 0,0005	0,0005 0,0005	0,001 0,001
Digossina *	per os i.m. e.v.	0,00025 0,00025 0,00025	0,001 0,0005 0,0005	0,001 0,0005 0,0003	0,003 0,0015 0,001
Diidralazina solfato (idrato)	per os	-	-	0,0125	0,2
Diidrocodeina (come base anidra)	per os	0,01-0,02	0,06	0,06	0,160
Diidrocodeina idrogeno tartrato *	per os i.m. o s.c.	-	-	0,030 0,050	0,240 0,300
Diidroergocristina mesilato	per os	-	-	0,003	0,006
Diidroergotamina cloridrato *	s.c. o i.m. e.v. per os gtt.	0,001 0,001 0,003 0,0001-0,0002	0,003 0,001 0,009 0,0003-0,0006	0,001 0,001 0,003 0,0003	0,003 0,001 0,012 0,0012
Diidroergotamina tartrato	subl.	0,002	0,006	0,002	0,01
Diidrostreptomina solfato	i.m. o s.c.	0,25-0,50	1	0,50	2
Diltiazem cloridrato	per os e.v.	0,06 0,05	0,18 -	0,12 -	0,5 -
Dimenidrinato *	per os o rett.	0,05	0,20	0,10	0,30
Dimetidene maleato	per os	-	-	0,001-0,002	0,003-0,006
Dimercapolo	i.m. o s.c.	0,15-0,20	0,80	0,20	1,20
Dimeticone	per os	0,04-0,10	0,16-0,40	0,10	0,40
Dimetilsolfossido	top. (intravescicale)	25	25	-	25
Dinoprost trometamolo	intramniotico infusione e.v.	- -	- -	0,052 (8 ml di una sol concentrata 0,005/ml) 0,000020/min	- 0,000020/min

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Dinoprostone *	per os	–	–	0,0015	–
	gel cervicale	–	–	0,000500	–
	gel vaginale	–	–	0,001	0,004
	ovuli	–	–	0,003	0,006
	e.v.	–	–	0,000000500/ min	–
Dipiridamolo *	per os	–	–	–	0,6
Dipivefrina cloridrato	top. (oft.)	–	–	0,1%	
Diprofillina	per os	0,2-0,4	0,4-1,0	0,4	2
Diritromicina	per os	–	–	0,5	0,5
Disopiramide *	per os	0,1-0,15	0,3-0,6	0,3	0,8
	per os mant.	–	–	0,1	0,3
	per os rit.	0,25	0,5	0,25	0,75
Disopiramide fosfato	e.v.	0,07-0,15	–	–	–
Disulfiram *	per os	0,8	0,8	1,6	1,6
Ditranolo	top.	La dose abituale è crema o unguento allo 0,1-2% per 60 min. La dose massima è crema all'1% per la notte.			
Dobutamina cloridrato	infusione e.v.	–	–	112×10^{-7} /kg/min	448×10^{-7} /kg/min
Docusato sodico	per os rettale	–	–	0,5	0,5
		–	–	0,120	0,120
Domperidone	per os	0,01-0,02	0,03-0,06	0,02	0,08
Dopamina cloridrato *	fleboclisi	0,000002-0,00001/kg/min		–	0,00005/kg/min
Dosulepina cloridrato *	per os	–	–	0,050	0,225
Doxapram cloridrato	infusione e.v.	–	–	0,0015/kg	0,004/kg
Doxepina cloridrato	per os	0,025-0,05	0,05-0,15	0,1	0,3
Doxiciclina *	per os	0,1	0,2	–	–
Doxiciclina iclato (come doxiciclina) *	per os o e.v.	0,10-0,20	0,20	–	0,30-0,60
Doxilamina succinato	per os	–	–	0,025	0,150
Doxorubicina cloridrato *	e.v.	0,025-0,03 m ² nelle 24 ore in 2 o 3 giorni successivi ogni 3-4 sett., o 0,06-0,075/m ² (0,0012-0,0024/kg) nelle 24 ore come dose singola ogni 21 giorni			0,55 m ²
Droperidolo	per os	0,005	0,15	0,025	–
	e.v.	–	0,02	–	0,05
Ebastina	per os	–	–	0,020	0,020
Econazolo *	top.	–	–	1%	
	top. vag.	–	–	0,150	
	top. vag.	–	–	1%	
Econazolo nitrato *	top.	crema, sol., aerosol, polvere, latte, gel e schiuma all'1%.			–
	top. vag.	0,05	–	0,15	0,15
Edrofonio cloruro *	e.v.	–	–	0,010	0,040
Efedrina cloridrato	per os o s.c. o i.m.	0,015	0,045	0,06	0,25
	top.	gocce nasali allo 0,25% (ped.) e allo 0,5%, evitando l'uso continuato.			
Efedrina racemica cloridrato *	per os	0,015-0,06	0,06-0,18	–	–

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Emetina cloridrato pentaidrato *	i.m. o s.c.	0,02-0,03	0,04-0,06	0,04	0,06
Enalapril maleato	per os e.v. lenta	– –	– –	0,020 0,00125	0,040 0,005
Enoxaparina sodica	s.c. (per 7-10 giorni)	0,02	0,02	0,04	0,04
Enoxolone	top.	–	–	0,005	0,030
Eparina calcica	i.m. o s.c.	5.000-10.000 U.	10.000-20.000 U.	20.000 U.	20.000 U.
Eparina sodica	i.m. o e.v.	0,05-0,10	0,25	0,20	0,60
Epirubicina cloridrato *	e.v.	–	–	0,060- 0,090/m ²	0,060-0,090/m ²
Eptabarbital	per os	0,05-0,10	0,30	0,4	0,60
Ergometrina maleato	per os s.c. o i.m. e.v.	0,0005 0,00025 0,0001	0,0015 0,00075 0,0005	0,001 0,0005 –	0,002 0,001 –
Ergotamina tartrato	per os s.c. o i.m.	0,001 0,00025	0,003 0,001	0,002 0,0005	0,006 0,002
Eritromicina	per os	0,25-0,50	1-2	0,50	3
Eritromicina estolato (come eritromicina)	per os	0,25-0,50	1	–	4
Eritromicina etilsuccinato (come eritromicina)	per os i.m.	0,25-0,80 0,10	1-4 0,30-0,60	– –	4 2
Eritromicina lattobionato	per os e.v.	0,75 0,75	1,5-3 1,5-3	1,5 1,5	6 6
(Infusione continua di una soluzione allo 0,5%)					
Eritromicina stearato (come eritromicina)	per os	0,25-0,50	1	–	4
Eritropoietina soluzione concentrata	Alfa s.c./e.v. Beta s.c./e.v.	– –	– –	50 U/kg 80 U/kg	50 U/kg 80 U/kg
Esametilentetrammina	per os	0,50	1	1	2
Esametilentetrammina anidrometilencitrato	per os	0,50	1	1	2
Esetidina	collutorio	–	–	0,1 sciolti in 200 ml di soluzione	
Esilresorcina	per os	0,20-1	1	1	1
Esilresorcinoles	top.	–	–	0,00125	0,010
Esobarbital	per os	0,25-0,50	0,25-0,50	0,60	0,60
Esteri etilici degli acidi omega-3 *	per os	–	–	1	3
Estradiolo benzoato	i.m. o s.c.	0,0001-0,001	–	0,005	–
Estradiolo emiidrato	top.	25-100 µg	100 µg	–	–
Estradiolo valerato	per os	–	–	0,002	0,002
Estriolo *	per os top. (vaginale) ovuli	– – –	– – –	– 0,1% 0,000500	0,003 0,1% 0,000500

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Estrogeni coniugati *	per os	–	–	–	0,00125 –
	e.v. top.	– –	– –	0,025 4 g di crema 0,0625%	0,050 –
Estrone *	i.m.	0,0001-0,002	0,0001-0,004	0,002	0,004
Etambutolo	per os o i.m.	–	0,015-0,025/kg	–	–
Etambutolo cloridrato *	per os	0,015/kg	0,015/kg	–	0,50-1
Etamsilato *	per os	–	–	0,5	2
Etere	inal. (per anestesia)	Minima concentrazione alveolare (MAC) 1,92%.			–
Etilbiscumacetato	per os	0,15	0,90	0,30	1,20
Etilefrina cloridrato *	per os	–	–	0,010	0,030
Etilmorfina cloridrato	per os	0,01-0,05	0,06-0,09	0,05	0,2
Etinamato	per os	0,50-1	0,50	1	1
Etinilestradiolo *	per os	0,00001-0,00002	0,00005-0,0001	0,0001	0,0003
Etionamide	per os	0,25	0,50-1	1	1
Etisterone	per os	0,005-0,025	0,05-0,10	–	–
Etodolac	per os	–	–	0,6	1,2
Etofenamato	top.	–	–	10% in crema	
	i.m.	–	–	1	1
Etofillina	per os	0,2	0,5	0,4	1
Etomidato	e.v.	–	–	0,000300/kg	–
Etoposide *	e.v.	0,05-0,120/m ²	–	–	–
Etosuccimide *	per os	0,25	0,5	0,5	1,5-2
Etretinato *	per os	0,025	0,05	0,05	0,075
Eugenolo	top. (odont.)	–	–	Fino a 2,5 mg/kg.	–
Famotidina	per os	0,02-0,04	0,04	–	–
	e.v.	0,02	0,04	–	–
Felce maschio estratto *	per os	1-3	6-8	3	8
Felodipina	per os	0,05-0,01	0,02	–	–
Fenacetina	per os	0,25-0,50	0,75-1	0,50	1,50
Fenazone	per os	0,15	0,90	0,50	2
Fenbufen *	per os	–	–	0,6	0,9
Fendimetrazina bitartrato	per os	0,0175-0,075	0,07-0,21	–	0,21
	per os rit.	0,105	0,105	–	–
Fenilbutazone	per os	0,10-0,20	0,20-0,40	0,20	0,60
Fenilalanina	fleboclisi	In combinazione con altri aminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale.			–
Fenilefrina *	top.	0,1-10%	–	–	–

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Fenilefrina cloridrato *	nasale oft. per os sc. o i.m. e.v. fleboclisi	0,01 - 0,001-0,01 0,0005 0,005-0,02 (0,00003-0,00018/min)	0,03-0,04 sol. 0,02-015% o 2,5-10% 0,06-015 - 0,001	- - - - -	- - - - -
Fenilpropanolamina cloridrato *	per os	0,025	0,075	0,05	0,1
Feniramina maleato *	per os	-	-	0,030	0,090
Fenitoina *	e.v. lenta per os	- -	- -	- 0,3	0,014/kg 0,6
Fenitoina sodica	per os	0,10	0,30	0,20	0,60
Fenobarbital	per os	0,02-0,10	0,10-0,20	0,20	0,40
Fenobarbital sodico	per os i.m. o s.c.	0,05-0,10 0,10	0,20 -	0,20 0,20	0,40 -
Fenofibrato	per os	-	-	-	0,2
Fenoltaleina *	per os	-	-	0,2	0,270
Fenolsolfonftaleina	e.v.	0,006	-	-	-
Fenossetanolo	top.	2-2,2%	-	-	-
Fenossimetilpenicillina	per os	0,175-0,25	0,50-1	0,25	1,5
Fenoterolo bromidrato	per aerosol	0,001-0,002	0,004-0,008	-	-
Fentanil *	i.m. e.v. cerotti	- - -	- - -	0,000100 0,000050/kg 0,000100/h	0,000100 0,000050/kg 0,0072
Fentermina	per os	0,015-0,03	0,015-0,03	0,3	0,05
Fenticonazolo nitrato	top.	-	-	2%	
Fentolamina mesilato	i.m. , e.v. e.v.	0,005-0,01 0,005-0,06	0,005-0,01 (Infusione in 10-30 min)	-	- -
Ferro citrato ammoniacale	per os i.m.	0,30 0,05-0,10	0,60 -	1 0,40	2 -
Ferroso fumarato	per os	0,2	0,6	-	-
Ferroso gluconato	per os	0,30	0,90	0,50	1,50
Ferroso solfato	per os	0,20	0,60	0,50	1
Fisostigmina salicilato *	oft. s.c. o i.m. o e.v.	sol. 0,25% (1 gt., 2-3 v.nelle 24 ore)		-	-
		0,0005-0,002	-	-	-
Fisostigmina solfato	top. (oft.)	unguento allo 0,25%.	-	-	-
Fitomenadione	per os i.m.	0,01 0,01	0,03 0,03	- -	0,06 -
Flecainide	per os e.v.	- -	- -	0,1 0,002/kg in 10-30 min	0,4 0,6
Flubendazolo *	per os	-	-	0,100	0,200

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Flucitosina *	per os infusione e.v.	– –	– –	0,035/kg 0,035/kg	0,150/kg 0,150/kg
Flucloxacillina sodica	per os o i.m. e.v.	0,25 0,25-1,0	1 4	0,5 1	2 4
Fludrocortisone acetato *	per os	0,05-0,1 mg	0,3 mg	–	–
Flufenazina cloridrato	per os	0,001	0,002	0,005	0,02
Flufenazina decanoato	i.m.	0,025	–	–	–
Flufenazina enantato	i.m.	0,025	–	–	–
Flumazenil	e.v.	–	–	0,000500	0,005
Flumequina	per os	–	–	0,4	1,2
Flumetasone pivalato	top. gtt. oculari	– –	– –	0,02% 0,02%	
Flunarizina dicloridrato *	per os	–	–	0,010	0,010
Flunitrazepam *	per os	0,0005-0,001	0,002	0,002	0,002
Fluocinolone acetoneide	top.	pom. (ung., crema, gel) 0,05%		–	–
Fluocortolone pivalato	top.	–	–	0,1%	
Fluoresceina sodica *	top. (oft.) e.v.	– –	– –	1-2% 0,5 in una soluzione 10-25%	
Fluorouracile *	fleboclisi e.v. top	0,015/kg o 0,6 per ml al di, fino a un massimo di 1 per dose, diluiti in 300 - 500 ml di soluzione glucosata al 5%, in 4 h. 0,012/kg o 0,480 per ml al di per 3 giorni consecutivi, e ridotti alla metà nei 3 giorni successivi. Pomata al 5% applicata in strato sottile 1-2 v. al di per 3-4 sett.			
Fluoxetina cloridrato	per os	0,02	0,06	0,08	0,16
Flurazepam monocloridrato	per os	0,015-0,03	–	–	–
Flurbiprofen	per os supposte top. (oft.)	– – –	– – –	0,2 0,2 0,03%	0,3 0,3 –
Fluspirilene *	i.m.	–	–	0,010	0,010
Flutamide	per os	–	–	0,25	0,75
Fluticasone propionato	inal. top. (nasale)	– –	– –	0,001000 0,000400	0,002000 0,000800
Folcodina	per os	0,004-0,015	0,03	0,03	0,06
Formoterolo fumurato diidrato	inal.	–	–	0,000024	0,000048
Foscarnet sodico esaidrato *	inf. e.v.	–	–	0,020/kg	0,200/kg
Fosfomicina calcica	per os	–	–	3,87	3,87
Fosfomicina calcica monoidrato	per os	1,4	4,2	1,4	5,6
Fosfomicina sodica	e.v./i.m.	–	–	1,17	18,6
Fosfomicina trometamolo	per os	–	–	5,6	5,6
Framicetina solfato	per os top. (oft.)	1 soluzione allo 0,5%	4 –	1 –	4 –
Frangola estratto fluido	per os	4-8	8-15	–	–

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Ftalilsulfatiazolo	per os	1	6	2	10
Furazolidone	per os	0,10	0,40	–	0,40 per 5 giorni
Furosemide *	per os i.m. o e.v.	0,02-0,120 0,02-0,20	0,08-0,16 –	0,16 –	0,60 6
Gallamina triiodoetilato *	e.v.	0,02-0,04	–	0,08	–
Gentamicina solfato (come gentamicina)	i.m. o e.v. o fleboclisi top.	0,001-0,002/kg pom. (ung. o crema) 0,1% (3-4 v. nelle 24 ore)	0,003-0,005/kg	–	0,008/kg –
Giusquiamo foglia	per os	0,2	0,6	0,3	10
Giusquiamo estratto fluido	per os	0,03	0,10	0,05	0,15
Glibenclamide	per os	0,0025	0,005	0,005	0,015
Glicerolo trinitrato soluzione	infusione e.v.	–	–	0,000400/min	0,000400/min
Glicina	fleboclisi	In combinazione con altri amminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale.			–
Gliclazide	per os	–	–	0,160	0,320
Glipizide	per os	0,005	0,015	0,01	0,04
Glucagone	i.m. o s.c. o e.v.	0,001	0,002	0,001	0,002
Glutetimide	per os	0,25	0,5	0,25	0,5
Gonadorelina acetato	e.v.	0,1 mg	–	–	–
Gonadotropina corionica	i.m. o s.c.	100-500 U.	–	5.000 U.	–
Gonadotropina corionica umana	i.m., s.c.	125-5.000 U.	5.000 U.	–	–
Gramicidina (in associazione)	top.	crema 0,005%	–	–	–
Griseofulvina	per os	0,125-0,50	0,50-1	–	–
Guaiacolo	per os	0,10	0,30	0,30	1
Guaiifenesina	per os	0,2	1,2	0,4	2,4
Guanetidina monosolfato *	per os i.m.	0,01-0,02 0,01-0,02	0,01-0,02 –	– –	0,30 –
Guar galattomannano *	per os	–	–	5	15
Glucagone umano *	i.m. o s.c. o e.v.	–	–	0,001	0,001
Goserelina *	s.c.	–	–	0,0036	0,0036
Ialuronidasi	s.c.	250-300 U.	1.500 U.	500 U.	1.500 U.
Ibuprofene	per os rett. top.	0,4 0,6 crema 10%. 2 - 3 applicazioni al dì.	1,2 1,2	0,6 0,6 –	1,8 1,2 –
A dosi unitarie non superiori a 0,2 e giornaliere fino a 1,2, per indicazioni analgesiche e antipiretiche, può essere dispensato senza prescrizione.					
Ictammolo	top.	10%	–	–	–
Idoxuridina	oft. top.	coll. o pom. oftal. allo 0,1% - 0,5%: 1 gtt. ogni 2 - 4 ore per 5 giorni. sol. 5% in dimetilsolfossido sulle lesioni erpetiche 4 v. al dì per 4 giorni			
Idralazina cloridrato	per os e.v.	0,025 0,01	0,05 –	0,05 –	0,1 –

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Idraste estratto fluido	per os	0,30	1	1	4
Idrastina cloridrato	per os	0,01	0,03	0,03	0,10
Idroclorotiazide	per os	0,025-0,05	0,05-0,10	0,05	0,10
Idrocortisone	per os o i.m. o e.v.	0,02 –	0,08 –	0,10 –	0,30 –
Idrocortisone sodio succinato	e.v. o i.m.	0,025	0,075	0,10	0,30
Idromorfone cloridrato *	per os s.c. o i.m. rett.	– – –	– – –	0,004 0,002 0,003	0,024 0,012 0,012
Idrossietil salicilato	top.	–	–	10%	
Idroxizina cloridrato	i.m. per os	– 0,01-0,025	– 0,05	0,06-0,1 0,05	0,4 0,4
Idroxocobalamina *	i.m.	µg 5-100	–	–	–
Idroxocobalamina acetato	per os o i.m.	0,001	0,004	–	–
Ifosfamide *	e.v.	–	–	2/m ²	10/m ²
Imipenem	e.v. i.m.	– –	– –	1 0,75	1 1,5
Imipramina cloridrato	per os o i.m.	0,025	0,075	0,05	0,15
Immunoglobulina umana anti-epatite B per uso endovenoso	e.v.	6 U./kg	10 U./kg	–	–
Indapamide	per os	0,0025	0,0025	0,0025	0,005
Indometacina	per os rett.	0,025-0,05 0,10	0,05-0,15 0,20	– –	0,20 0,20
Insulina	i.m. o s.c. e.v.	5-100 U. secondo necessità 10-20 U. ripetuta	– –	– –	– –
Insulina protamina zinco	i.m. o s.c.	10-80 U. sec. necessità	–	–	–
Interferone alfa- 2-a soluzione concentrata	i.m.,s.c.	3.000.000 U./giorno per 24 settimane. Successivamente 3.000.000 U. 3 volte alla settimana.			
Interferone alfa- 2-b soluzione concentrata	s.c.	2.000.000 U./m ² superficie corporea			–
Interferone gamma-1b soluzione concentrata *	s.c.	–	–	0,000050/m ² 0,0000015/m ²	0,000050/m ² 0,0000015/m ²
Iodo clorossichinolina	per os	0,25	0,75	0,50	1,50
Ioexolo	e.v.	soluzione al 30-75%. Le dosi variano in ragione della procedura diagnostica.			
Iopamidolo *	–	–	–	–	–
Iosciamina solfato	per os i.m.	0,000125-0,00025 0,00025	0,0005-0,001 0,00025-0,0005	0,0005 0,0005	0,001 0,0005
Ipecacuana polvere o estratto fluido *	per os espettorante emetico	0,03-0,05 1-2	0,12 –	0,05 –	0,12 –
Ipfisi posteriore polvere	s.c. o i.m.	10 U.	30 U.	–	–
Ipratropio bromuro	per aerosol	0,025%	–	–	–

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Isoconazolo	top.	1%	–	–	–
Isoconazolo nitrato	top.	1%	–	–	–
Isoleucina	fleboclisi	In combinazione con altri amminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale.			
Isoniazide	per os	0,05-0,15	0,50	0,30	1
Isoprenalina cloridrato *	e.v. lenta	–	–	0,000060	–
	s.c./i.m.	–	–	0,000200	–
	per os	–	–	0,030	0,84
	s.l.	–	–	0,030	0,180
Isoprenalina solfato	s.l.	0,005-0,01	0,02-0,03	0,015	0,04
Isosorbide dinitrato	per os	0,005-0,04	0,015-0,08	–	0,12
	s.l.	0,005-0,01	–	0,01	0,01/h
	fleboclisi	0,02-0,01/h	–	–	–
Isosorbide mononitrato diluito	per os	0,02	0,04-0,06	0,02	0,12
Isotretinoina	per os	0,005-0,02	0,05	–	–
Isoxsuprina cloridrato	per os	0,02	0,08	0,02	0,08
	i.m.	0,01	0,03	0,01	0,03
	e.v.	Nell'arresto del parto prematuro, si somministra una soluzione contenente 0,0002/ml alla velocità di infusione di 0,0002-0,0003/min fino ad un massimo di 0,0005/min. Successivamente, si somministra per via i.m. 0,001 ogni 3 h per 24 h, ogni 4-6 h per 48 h e, infine, 0,04-0,08 per os in dosi frazionate.			
Isradipina *	per os	–	–	0,010	0,020
Itraconazolo	per os	–	–	0,4	0,6
Ivermectina *	per os	–	–	0,012	0,012
Kanamicina solfato	per os	0,50	1-2	1	4
	i.m.	0,50	1	1	1,50
Ketamina cloridrato	e.v.	0,05-0,01	–	–	–
Ketobemidone cloridrato *	per os	–	–	0,010	0,020
Ketoconazolo	per os o top.	0,2	–	0,4	–
Ketoprofene	per os o top.	0,05-0,1	0,15	0,15	0,3
Labetalolo cloridrato	per os o e.v.	0,1-0,2	0,3	0,2	0,6
Lanatoside C	per os	0,00025	0,001	0,0005	0,002
Lattitolo monoidrato *	per os	–	–	0,23/kg	0,7/kg
Lattulosio	per os	–	–	20	120
Lattulosio soluzione	per os	3,0-5,0	10,0-20,0	20,0-40,0	100,0
Lefetamina	per os	0,05-0,10	0,20	0,10	0,20
	i.m.	0,06	0,06-0,12	0,12	0,12
	rett.	0,05	0,15	0,05	0,20
Leucina	fleboclisi	In combinazione con altri amminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale.			
Leuprorelina *	s.c.	–	–	0,0036	0,0036
	i.m.	–	–	0,0072	0,0072
Levamisolo cloridrato	per os	Ad.: 0,12 - 0,15 a dose singola; ped. 0,003/kg. In casi gravi una seconda dose può essere somministrata dopo 7 giorni dalla prima.			

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Levocabastina cloridrato	top. (oft., rinologico)	–	–	Sol. 0,05%	
Levocarnitina	per os e.v. lenta	– –	– –	1 0,1/kg in 2-3 min	3 3
Levodopa *	per os	0,25	0,50-1	0,75	8
Levodropropizina	per os	–	–	0,060	0,180
Levomepromazina cloridrato	per os	0,025	0,05	0,1	0,20
Levomepromazina maleato	per os i.m.	0,025-0,10 0,025	0,025-0,20 0,025	0,05-0,20 0,025-0,05	1 0,025-0,05
Levometadone cloridrato	Vedi la voce Metadone cloridrato				
Levonorgestrel	per os	30 µg	–	–	–
Levotiroxina sodica	per os i.m. o s.c.	0,00005 0,00005	0,0001 0,0001	0,0001 0,0001	0,0003 0,0002
Lidocaina	parent. fleboclisi top.	0,05-0,25 0,001-0,004/min (sol. 0,1-0,2%) pom., sol., aerosol, ecc. 0,3-5%	–	– – –	0,50 0,60 –
Limeciclina	per os i.m.	0,15 0,10	0,60 0,30	– –	– –
Lincomicina cloridrato (come lincomicina)	per os i.m. e.v.	0,50 0,30-0,60 0,60-1	1,5-2 0,60-1,20 1,80	– 0,60 –	2 1,20 8,40
Lindano	top.	0,3%	–	–	–
Linestrenolo *	per os	0,005	0,01	0,01	s.p.m.
Liotironina *	per os	0,000005-0,00005	0,00005	0,00005	–
Lipressina	nasale	10-20 U.	30-140 U.	20 U.	140 U.
Liquirizia	per os	–	10	–	15
Lisinopril diidrato	per os	0,0025-0,02	0,0025-0,02	0,04	0,04
Litio carbonato *	per os per os rit.	0,60 0,60-0,90	1,8 1,8	0,60 0,90	2,4 2,4
Litio citrato	per os	0,1	0,3	0,3	0,6
Lobelina cloridrato *	i.m. o s.c. e.v.	0,003-0,01 0,003-0,005	0,02 0,01	0,02 0,01	0,05 –
Lomustina	per os	0,1/m ²	ogni 6 sett.	–	–
Loperamide cloridrato	per os	0,002-0,004	0,01	–	–
Loperamide ossido monoidrato *	per os	–	–	0,00208	0,00832
Lorajmina cloridrato	per os i.m. o e.v.	0,075-0,20 0,05	0,20-0,60 0,10	– –	1,2 –
Lorazepam	per os e.v., i.m. e.v. infus. (premedic.)	0,0005-0,002 0,000025-0,00003/kg Fino a 0,00005/kg con velocità di infusione massima di 0,002/min	0,001-0,006 0,000075-0,00009/kg	0,004 –	0,01 –
Lovastatina	per os	–	–	0,080	0,080

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Magaldrato	per os	–	–	2	2
Magnesio cloruro	per os	8-30	8-30	30	30
Magnesio ossido	per os antiacido lassativo	– 0,25 3-10	– 1 –	– – –	– – –
Magnesio solfato	per os coleretico purgativo	0,5-1 15-20	– –	– –	– –
Magnesio trisilicato	per os	0,50-2	–	–	2
Malathion	top.	–	–	0,5%	1%
Maprotilina cloridrato	per os	–	–	0,025	0,225
Mazindolo	per os	0,001-0,004	0,003	–	0,008
Mebendazolo	per os	0,1-0,2	0,4	–	0,5
Meclozina cloridrato *	per os	0,025-0,05	0,1	0,05	0,15
Medrossiprogesterone acetato	per os i.m.	0,005-0,01 0,05 (alla sett.)	0,01-0,04 –	– –	– –
Mefenesina	per os	0,25-0,50	1	1	3
Mefloquina cloridrato *	per os	–	–	0,0164/kg	0,0164/kg
Menadione	i.m. o e.v. o per os	0,001	0,001-0,002	0,002	0,01
Menotropina	per os o i.m.	Da determinare caso per caso			
Mepacrina	per os	0,10-0,30	0,10-0,90	–	1
Mepacrina cloridrato	per os	0,10	0,30	0,20	1
Meperidina cloridrato	i.m. o s.c. o per os	0,025-0,10	0,10-0,20	0,20	0,40
Mepiramina maleato	per os i.m. top.	0,10 0,10 pom. 2%	0,30 – –	– – –	1 – –
Mepivacaina cloridrato	qualsiasi via	–	–	0,4	1
Meprobamato	per os	0,20-0,40	0,80	0,80	2
Merbromina	top.	sol. 1-2%	–	–	–
Mercaptopurina *	per os	0,0025/kg o 0,08-0,10/m ² nelle 24 ore in dose singola o suddivisa			–
Mercurio fenilnitrito	top.	0,002%	–	–	–
Mercurio ossido giallo	oft.	pom. 1%	–	–	–
Mercuroso cloruro	per os	0,03-0,20	0,20	0,20	0,40
Mesterolone	per os	–	–	0,1	0,1
Mestranolo *	per os	0,00005-0,015	0,00005-0,015	0,01	s.p.m.
Metacolina cloruro	s.c.	0,01	0,03	0,02	0,06
Metadone cloridrato *	per os o s.c. o i.m.	0,0025	0,02	0,01	0,08
Metamizolo sodico *	per os e.v./i.m. rettale	–	–	– – 3	4 7,5 3

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Metaqualone	per os	0,15-0,3	0,15-0,3	0,3	0,3
Metenammina	per os	–	–	1	4
Metformina cloridrato	per os	0,5	1,5	1,0	3,0
Meticillina sodica	i.m. o e.v. o fleboclisi	1	4	2	8
Metilatropina bromuro	oft.	sol. 0,5-2%	–	–	0,003-0,004
Metilatropina nitrato	per os	0,001	0,004	0,002	0,006
Metildopa	per os	0,25-0,50	0,50-1,5	–	3
Metile salicilato	top.	pom., lin., sol. 25-50%		–	0,0005/m ²
Metilfenobarbital	per os	0,05-0,10	0,20	0,15	0,60
Metilprednisolone	per os	0,004-0,05	0,008-0,08	–	0,08
Metilprednisolone acetato *	sosp. iniett.	0,04-0,08	–	–	–
Metilprednisolone idrogeno succinato	i.m. e.v. lenta	0,015-0,65 0,015-0,3	0,015-0,65 0,015-0,3	1 0,03/kg	1 (per 3 giorni) 0,06/kg (per 2 giorni)
Metilscopolamina nitrato	per os	0,001-0,004	0,002-0,004	0,004	0,012
Metiltestosterone	s.l. per os	– 0,01-0,025	0,0015 0,02-0,05	– –	0,01 –
Metiltiouracile	per os	0,05-0,10	0,10-0,20	0,2	0,6
Metimazolo	per os	0,01	0,02-0,03	0,01	0,05
Metionina	per os	0,25-0,5	2,0	2,5	10,0
DL-Metionina	per os	2,5	5	2,5	7,5
Metiprilone	per os	0,10	0,30	0,20	0,60
Metixene cloridrato *	per os	–	–	0,0025	0,060
Metoclopramide *	per os/e.v./i.m.	–	–	0,009	0,00044/kg
Metoprololo tartrato	per os	0,05-0,1	0,3	0,2	0,4
Metotrexato *	per os o i.m. o e.v. per os o i.m. o e.v.	0,012-0,05/m ² (1-2 v. alla sett.)		– –	– 0,10
Metronidazolo *	per os o rett. o vag.	0,25-0,75	0,75-2	2	2
Metrifonato	per os	0,0075/kg	0,0225/kg	Il trattamento va ripetuto con intervallo di 2 sett.	
Metronidazolo benzoato *	per os	0,25	0,75	–	–
Mexiletina cloridrato	per os	0,2	0,6	–	–
Mianserina cloridrato	per os	0,03	0,09	0,06	0,2
Miconazolo nitrato	top. vag.	2%: per applicazioni locali 2 volte al dì, mattina e sera crema o lavanda: una applicazione al dì, la sera, per 7 giorni ovuli: 0,1 al dì, la sera, per 7 giorni			
Midazolam	i.m. o e.v.	0,0025	0,0075	–	–
Minociclina cloridrato	per os	0,1	0,2	–	–
Minoxidil	per os top.	0,005 2%	0,015 –	0,01 –	0,04 –
Mitomicina *	e.v.	–	–	0,080/m ²	0,080/m ²

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Mitoxantrone cloridrato	infusione e.v.	–	–	0,016/m ²	0,016/m ²
Mometasone furoato	top.	–	–	0,1%	
Morfina solfato *	per os	–	–	0,030	0,180
	s.c.-i.m.	–	–	0,020	0,120
	e.v. lenta	–	–	0,015	–
	e.v. continua epidurale	–	–	–	0,080/h
	intraspinale	–	–	0,006	0,006
				0,005	0,010
Mupirocina	top.	–	–	2%	
Mupirocina calcica	top.	–	–	2%	
Nabumetone	per os	–	–	1	1
Nadololo *	per os	–	–	0,080	0,240
Nadroparina calcica	s.c.	3075 U.	3075 U.	100 U./kg	200 U./kg
Nafazolina cloridrato	top.	0,05-0,1%	–	–	–
Nafazolina nitrato	inst.	sol. 0,05%	–	–	–
	oft.	sol., pom. 0,1%	–	–	–
Nalorfina bromidrato	e.v.	0,002-0,01	0,01-0,02	0,02	0,04
Naloxone cloridrato *	per os	3	3	3	3
	e.v. o i.m.	0,0004	0,002	–	0,003
Naproxene	per os	0,025-0,05	1	1	1
Neofenamina	e.v.	0,15-0,90	0,15-0,90	0,90	0,90
Neomicina solfato *	per os	0,25-1	4	2	6
	i.m.	0,25	1	0,50	1
Neostigmina (bromuro o metilsolfato)	s.c. o i.m.	0,00025-0,0005	0,0015	0,001	0,0025
	per os	0,015	0,03	0,02	0,04
Neostigmina bromuro	top. (oft.)	soluzione al 3%	–	–	–
Netilmicina solfato	i.m.	–	–	0,003/kg	0,006/kg
Nicergolina *	per os	–	–	–	0,060
	i.m.	–	–	0,004	0,008
	infusione e.v.	–	–	0,004	0,008
Nicotamide	per os, s.c., i.m.	0,0065-0,02	0,034-0,04	0,05-0,1	0,1-0,25
Nicosamide	per os	1-2	1-2 in 2 ore	–	2
Nicotina *	gomma	–	–	0,004	0,060
	cerotti	–	–	0,005	0,022
	spray nasale	–	–	0,0005	0,032
Nicotina resinato *	per os	–	–	0,020	0,300
Nicotinamide	per os	0,05-0,10	0,20-0,30	0,30	1
	s.c. o i.m.	0,05-0,10	0,20	0,20	0,50
Nifedipina *	per os	0,03	0,03	0,06	0,12
Nifuroxazide *	per os	–	–	–	0,800
Nimesulide	per os	–	–	0,1	0,2
	supposte	–	–	0,1	0,2

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Nimodipina *	per os infusione e.v.	– –	– –	0,060 0,002/h	0,360 0,002/h
Nimorazolo	per os	0,25-2	2	–	2
Niridazolo *	per os	0,20-0,75	0,75	0,75	1,5
Nistatina	per os vag.	500.000- 1.000.000 U. 100.000 U.	1.500.000- 4.000.000 U. 100.000 U.	– 100.000 U.	4.000.000 U. 1.000.000 U.
Nitrazepam	per os	0,0025-0,01	0,01-0,02	0,02	0,05
Nitrendipina	per os	–	–	0,020	0,040
Nitrofurale	top.	soluzione allo 0,2%		–	–
Nitrofurantoina	per os	0,05-0,10	0,20-0,40	0,10	0,60
Nitrofuril	top. per os	pom. 0,2% 0,10-0,40	– 1-2	– –	– 2
Nitroglicerina	per os s.l.	0,0013-0,009 0,00015-0,0006	0,0026-0,018 0,0005-0,0018	0,009 –	0,025 0,01
Nizatidina	per os e.v.	– –	– –	0,3 0,010/h	0,3 0,48
Noce vomica polvere	per os	0,03	0,10	0,10	0,30
Noce vomica tintura	per os	0,30	1	1	3
Nomegestrol acetato *	per os	–	–	0,005	0,005
Noradrenalina cloridrato *	e.v.	0,0002-0,002	–	–	–
Noradrenalina tartrato acido *	i.m. fleboclisi	0,00025 0,0005	– –	0,0005 0,001	– –
Noretandrolone	per os	0,01-0,03	0,03	–	0,05
Noretinodrel *	per os	0,005	0,005-0,03	–	0,04
Noretisterone *	per os	0,005-0,02	0,005-0,025	–	0,02-0,04
Noretisterone acetato *	per os	0,005	0,015	0,030	0,06
Norfloxacin	per os top. oft.	– –	– –	0,8 0,3%	0,8
Norgestrel *	per os	0,0005	–	–	–
Nortriptilina cloridrato	per os	0,01-0,025	0,05	0,05	0,1
Noscapina	per os	0,015-0,03	0,045-0,12	0,06	0,250
Noscapina cloridrato	per os	0,015-0,03	0,045-0,12	0,06	0,250
Novobiocina sodica	per os o i.m.	0,25-0,50	1	0,50	2
Octatropina metilbromuro	per os	0,01	0,04	0,05	1,5
Ofloxacin	top. (oft.) per os; e.v.	– –	– –	0,3% 0,4	– 0,8
Olsalazina sodico	per os	–	–	1	3
Omatropina bromidrato	oft.	sol. 0,1-0,5%	1 gt. (2-5 v. nelle 24 ore)		–
Omatropina metilbromuro	per os	0,001-0,005	0,003-0,015	–	–

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Omeprazolo sodico	per os	0,02	0,04	0,04	0,12
Ondansetron cloridrato diidrato *	i.m.	–	–	0,008	0,032
	e.v.	–	–	0,032	0,032
	rett.	–	–	0,016	0,016
	per os	–	–	0,008	0,016
Oppio polvere	per os	0,02-0,03	0,20	0,10	0,50
Orciprenalina solfato	per os	0,01	0,03	–	–
Orfenadrina citrato	per os	–	–	0,1	0,2
	e.v. lenta/i.m.	–	–	0,060	0,120
Orfenadrina cloridrato	per os	–	–	0,050	0,4
	i.m.	–	–	0,040	–
Ossibuprocaina cloridrato	locale	–	–	Occhio: 0,4% Naso, gola: 1%	
Ossibutinina cloridrato	per os	–	–	0,005	0,020
Ossigeno	inal.	Ossigenoterapia domiciliare. Al bisogno		–	–
Ossimetazolina cloridrato	top. (nasale)	–	–	0,05%	
	top. (oft.)	–	–	0,025%	
Ouabaina (G-strofantina)	e.v.	0,00006-0,000125- 0,0005-0,00025	–	0,00025	0,0005
Oxaliplatino *	infusione e.v.	–	–	0,085/m ²	0,085/m ²
Oxazepam	per os	0,01-0,03	0,04-0,12	0,06	0,18
Oxeladina idrogeno citrato	per os	–	–	0,040	0,120
Oxicodone cloridrato *	per os	0,005	0,03	0,01-0,02	0,04-0,06
Oxifenbutazone *	per os	0,10-0,40	0,30-0,60	0,40	1,2
	rett.	0,25	0,50	0,25	1
Oxitetraciclina diidrato	per os	0,25	1	0,50	3
Oxitetraciclina cloridrato	per os	0,25-0,50	1,50	0,50	3
	e.v.	0,50	1	0,50	2
	i.m.	0,10-0,25	0,20-0,50	0,25	0,75
Oxitocina *	i.m. o s.c.	2-10 U.	–	–	–
Oxprenololo cloridrato	per os	0,04-0,16	0,08-0,48	0,16	1
	e.v.	0,002-0,016	0,004-0,016	–	0,016
Pancreas polvere	per os	1-2	2-6	–	6
Pancuronio bromuro	e.v.	0,00004-0,001/kg inizialmente, incrementando le dosi iniziando da 0,00001/kg, somministrandole generalmente ogni 20-60 min. Per intubazione endotracheale, e.v., da 0,00006 a 0,0001/kg.			
Papaverina cloridrato	per os	0,05-0,10	0,20	0,20	0,40
	s.c. o i.m. o e.v.	0,03-0,05	0,10	0,15	0,25
Paracetamolo	per os	0,4-0,8	1,2	1,2	2,6
Paraldeide	per clisma	2	4	5	10
Parnaparina sodica *	s.c.	–	–	–	0,3-0,4-0,6 ml di una soluzione 3200 U.I.
Paroxetina cloridrato emidrato *	per os	–	–	68,4	68,4

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Pefloxacin mesilato diidrato	per os infusione e.v.	–	–	0,56	1,12
		–	–	0,56	1,12
Penbutololo solfato	per os	–	–	0,020	0,080
Penicillamina	per os	0,125-0,50	0,25-2	0,50	4
Pentachina fosfato	per os	0,02	0,10	–	–
Pentaeritrile tetranitrato diluito	per os	–	–	0,040	0,24
Pentametilentetrazolo *	per os o s.c. o i.m. e.v.	0,10	0,30	0,20	0,40
		0,10	0,20	0,10-0,50	–
Pentamidina diisetionato	i.m. o e.v.	0,15	0,15-0,30	0,30	0,30
Pentazocina cloridrato	per os	–	–	0,1	0,6
Pentetrazolo	s.c. o i.m. o e.v.	0,10	0,20	0,20	0,60
Pentobarbital	per os rettale	–	–	0,18	0,18
		–	–	0,18	0,18
Pentobarbital sodico	per os i.m. o s.c.	0,05-0,10	0,15	0,10	0,20
		0,10	–	0,20	–
Pentossiverina idrogeno citrato	per os	–	–	0,050	0,2
Pentoxifillina	per os	0,4	0,8	–	1,2
Perfenazina	per os	0,004	0,012	0,008	0,024-0,064
	i.m.	0,005-0,01	–	0,01	0,03
La dose giornaliera più elevata si riferisce al trattamento di casi severi, per pazienti ospedalizzati					
Pergolide mesilato	per os	–	–	0,001	0,005
Perindopril sale di tert-butilamina *	per os	–	–	0,004	0,008
Petidina cloridrato	i.m. o s.c.	0,025-0,10	0,10-0,20	0,20	0,40
	per os	0,05-0,10	0,20-0,40	0,10	0,50
Picotamide monoidrato	per os	–	–	1,2	1,2
Picrotossina	i.m. o e.v.	0,001	0,003	0,003	0,006
Pilocarpina cloridrato	per os	0,005	0,01	0,02	0,04
	i.m. o s.c.	0,001	–	0,002	–
Pilocarpina nitrato	top. (oft.)	–	–	4%	
Pimozide	per os	–	–	0,004	0,020
Pindololo	per os	0,005-0,015	0,01-0,045	–	0,045
Pipenzolato bromuro	per os	0,005	0,015	0,01	0,02
Piperacillina sodica * (come piperacil- lina)	i.m. e.v. lenta	–	–	4	24
		–	–	0,3/kg	24
Piperazina adipato	per os	1-2	–	4	–
Piperazina citrato *	per os	2-4	2-4	–	4
Piperazina idrato	per os	1-4	2-4	4	4
Piracetam *	per os	–	–	10	20
Pirantel embonato *	per os	–	–	0,010/kg	0,010/kg

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Pirazinamide *	per os	0,5	1,5	–	3,0
Pirenzepina dicloridrato *	per os	0,025-0,05	0,1	0,05	0,15
Piretanide	per os	–	–	0,006	0,012
Piridossina cloridrato	per os o i.m.	0,01	0,10-0,30	–	–
Piridostigmina bromuro	per os	–	–	0,3	0,720
Pirimetamina	per os	0,025-0,05 (1 v. ogni 7 giorni per 4 sett.)		–	0,05 (1 v.ogni 7 giorni)
Piroxicam	per os	0,02	0,03	–	0,04
Pivampicillina	per os	0,5	1,0	1,0	2,0
Pivmecillina cloridrato *	per os	–	–	2,4	2,4
Podofillina *	top	–	–	Soluzione 15% Soluzione 25%	
Poligala radice	per os	0,5	0,2	–	–
Polimixina B solfato	e.v.	15.000-25.000 U./kg nelle 24 ore per inf. continua			
	i.m.	5.000-10.000 U.	25.000-30.000 U.	–	50.000 U.
	top.	–	–	–	–
Polvere del Dover	per os	0,10-0,20	0,60	0,30	1
Potassio bromuro	per os	1	3	1	6
Potassio clavulanato	per os	0,125	0,375	0,250	0,750
		(usato solo in combinazione con amoxicillina, 1:2)			
Potassio ioduro	per os	0,30-0,50	1-2	1	4
Potassio solfoguaiacolato	per os	0,50	1,50	1	3
Povidone-iodio	top.	soluzione 1-10%, polvere 5%.			
Pralidossima metilsolfato *	i.m. o e.v. lenta	0,20-0,40	1	–	–
Pravastatina sodio *	per os	–	–	0,040	0,040
Prazepam *	per os	–	–	0,030	0,060
Praziquantel	per os	0,02/kg	0,06/kg	–	0,075/kg
Prazosin cloridrato	per os	0,0005-0,001	0,003	0,005	0,02
Prednicarbato	top.	–	–	0,25%	
Prednisolone	per os	0,005	0,02	0,02	0,08
Prednisolone acetato	per os	0,005	0,025	0,01	0,1
	i.m. (sosp.)	0,004	0,06	0,004	0,1
	i.artic.	0,005-0,025	0,005-0,025	0,025	0,025
	oft.	coll. (sosp.) 0,12-1%.	–	–	–
Prednisolone sodio fosfato	per os	0,025	0,08	0,05	0,3
	i.m. o e.v. o flebo	0,004	0,06	0,005	0,08
	i.art.	0,002	0,03	0,002	0,03
	oft.	coll. 0,125-1%	–	–	–
Prednisone	per os	0,005	0,02	0,02	0,008

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Prilocaina *	top. (anestesia locale)	–	–	4%	
Prilocaina cloridrato *	qualsiasi via infiltrazione e.v. regionale	– – –	– – –	Sol. 4% sol. 2% con o senza adrenalina	0,4 – – 2%
Primachina fosfato	per os	0,045-0,06 ogni 7 giorni (profilassi) 0,025 per 14 giorni (terapia)		–	–
Primidone	per os	0,250-0,375	0,75	0,75	1,5
Probenecid	per os	0,25-0,50	0,50-1	0,50	2
Procaina cloridrato	s.c.	1-20 ml sol. 0,25-1% 1-5 ml sol. 2%	–	–	–
Procainamide cloridrato *	per os o i.m. o e. v.	0,25-0,50	0,75-1	0,50	2
Proclorperazina maleato (come proclorperazina)	per os per os rit.	0,005-0,01 0,01-0,075	0,015-0,04 0,02-0,15	– 0,075	0,15 0,15
Progesterone	i.m. o s.c.	0,005-0,01	–	0,025-0,05	–
Proguanile cloridrato *	per os	0,10	0,40	0,2	0,2
Prolina	fleboclisi	In combinazione con altri aminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale			
Prolintano	per os	0,01	0,02	0,1	0,05
Promazina cloridrato	per os i.m.	– –	– –	0,2 0,1	0,8 1
Prometazina cloridrato	per os	0,025	0,075	0,05	0,10
Propacetamolo cloridrato *	per os	–	–	1,2	2,6
Propantelina bromuro	per os	0,015	0,045	–	–
Propifenazone	per os	0,15-0,30	0,30-0,50	0,30	0,90
Propiltiouracile	per os	0,05-0,10	0,10-0,20	0,20	0,60
Propofol *	e.v.	–	–	0,002/kg	–
Propranololo cloridrato *	per os e.v.	0,01-0,04 0,001-0,003(0,001/min.)	0,03-0,16 –	0,08 –	1 0,01
Protamina cloridrato	e.v. (lenta)	La dose abituale dipende dal soggetto.		0,05	0,05
Protamina solfato *	e.v.	–	–	–	–
Protirelina	e.v.	Per uso diagnostico: 0,0002-0,0005		–	–
Proxifillina	per os	0,3	1	1,2	2,4
Pseudoefedrina cloridrato *	per os	–	–	0,060	0,240
Rabarbaro polvere	per os	0,20	1	–	–
Ramipril	per os	–	–	0,005	0,010
Ranitidina cloridrato	per os e.v.	0,15 0,05	0,30 –	0,3 –	0,6 –

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Ratania radice	per os top. rett.	1 pomata al 10% 1	5 – 2	5 – –	10 – –
Rauwolfia serpentina (polvere)	per os	0,05-0,10	0,20-0,50	0,10	1
Reserpina *	per os per os i.m.	0,0001-0,00025 0,002-0,004 0,001-0,0025	0,00025-0,0005 0,006 0,005	0,0005 0,004 0,0025	0,001 0,01 0,01
Retinolo	per os i.m.	200.000 U. 100.000 U.	200.000 U. 100.000 U.	200.000 U. 100.000 U.	200.000 U. 100.000 U.
Ribavirina *	per os	–	–	0,600	1,2
Riboflavina sodio fosfato	per os	–	–	0,030	0,030
Rifabutina	per os	–	–	0,6	0,6
Rifamicina	i.m. e.v.	0,25 0,50	0,50-0,75 1	– –	– –
Rifamicina sale di sodio	i.m. infusione e.v.	–	–	0,250 0,750	0,750 1,5
Rifampicina	per os	0,60	0,90	0,60	0,90
Rilmenidina diidrogeno fosfato *	per os	–	–	0,001544	0,003088
Risperidone *	per os	–	–	0,004	0,016
Rolitetraciclina	i.m. e.v. o fleboclisi	0,15-0,35 0,35-0,70	0,30-0,70 0,70-1,40	0,35 0,70	0,70 1,40
Roxitromicina	per os (prima dei pasti)	0,15-0,3	0,3	–	–
<i>RRR</i> -alfa-Tocoferil acetato <i>RRR</i> -alfa-Tocoferolo <i>RRR</i> -alfa-Tocoferil idrogenosuccinato	– – –	– – –	La dose consigliata in caso di deficit è uguale a 4-5 RDA		
DL-alfa-Tocoferil idrogenosuccinato		Le dosi cambiano con il tipo di preparazione La dose consigliata in caso di deficit è uguale a 4-5 RDA			
Salbutamolo	per os inal. s.c. o i.m.	0,002-0,004 0,0002-0,0004 0,0005	0,006-0,016 0,0006-0,0016 0,003	– – –	0,008-0,016 0,04 –
Salbutamolo solfato	per os inal.	0,0024	0,0072	0,0048	0,096
		due inalazioni; 0,02 ogni 4 ore		–	–
Santonina *	per os	0,03-0,10	–	0,10-0,20	–
Scopolamina bromidrato	per os o s.c. o i.m.	0,0001-0,00025	0,0005	0,0005	0,001
Scopolamina butilbromuro (ioscina butilbromuro) *	per os e.v. i.m.	0,01 – 0,02	0,03 0,04 –	0,02 – –	0,06 – –
Secbutobarbital	per os	0,03-0,05	0,15	0,10	0,30
Secobarbital	per os i.m. o e.v.	0,05-0,10 0,10-0,25	0,20 –	0,20 0,50	0,40 –
Segale cornuta	per os	0,25	1	1	3
Selegilina cloridrato	per os	–	–	0,010	0,010
Selenio disolfuro	top.	Lozione al 2,5%. Si applica per 10-30 min 1 v. al dì per 14 giorni. shampoo al 2,5%. Si applicano 5-10 ml 2 v. per 2-3 min. Si ripete 2 v. alla settimana per 2 settimane			

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Senna	per os	0,60	–	2	–
Serina	fleboclisi	In combinazione con altri amminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale			
Simeticone	per os	–	–	0,2	0,8
Simvastatina	per os	–	–	0,040	0,040
Sinefrina tartrato	per os i.m. o e.v.	0,10-0,15 0,06-0,12	0,30-0,60 0,12-0,24	– –	– –
Sobrerolo	inal. per os rett.	– 0,10-0,20 0,2	– 0,20-0,80 0,20-0,40	– – –	– 1 1
Sodio alendronato *	per os	–	–	0,011	0,011
Sodio amidotrizoato	e.v.(1 min.)	Per urografia. La dose abituale è l'equivalente di 20 o di 0,3/kg di iodine			
Sodio benzoato	per os	0,30-0,50	2	1	4
Sodio bromuro	per os	1	3	2	6
Sodio calcioedetato	e.v.	1	2	2	4
Sodio citrato	per os	1-2	3-5	–	–
Sodio colistimetato *	i.m. o i.v. inal. e.v. lenta top	1.000.000 U. 1.000.000 U. 6.000.000 U.	6.000.000 U. 6.000.000 U. 1%	2.000.000 U. 2.000.000 U. 9.000.000 U.	9.000.000 U. 9.000.000 U. 9.000.000 U.
Sodio cromoglicato	per os top. (oft.)	–	–	0,250 4%	1 –
Sodio deidrocolato	e.v.	1-2	–	1-2	–
Sodio e potassio tartrato	per os	15-20	–	–	–
Sodio edetato	e.v.	–	0,02-0,07/kg	–	–
Sodio fluoruro	per os	0,0022	0,0022-0,02	–	–
Sodio fosfato dibasico	per os	2-20	–	–	–
Sodio glicerofosfato	per os	0,50	2	–	–
Sodio ialuronato	top. (oft.)	–	–	0,1%	
Sodio indigotindisolfonato	e.v.	0,04	0,04	–	0,16
Sodio ioduro	per os	0,30-0,50	1-2	1	4
Sodio metilarsinato	per os o i.m.	0,02-0,05	0,10	0,10	0,20
Sodio molibdato diidrato *	e.v.	–	–	–	0,00000485
Sodio nitrito	infusione e.v.	–	–	0,3 (10 mL di una soluzione 3%)	0,45
Sodio nitroprussiato	e.v.	0,0000005-0,000008/kg/min		–	0,000011/kg/min
Sodio <i>p</i> -aminosalicilato	per os	2-4	5-15	–	–
Sodio picosolfato	per os	0,0015	0,0045	–	–
Sodio salicilato *	per os	0,50-1	6	2	12
Sodio solfato	per os	15-30	–	–	–

Tabelle

Segue: **TABELLA N. 8**

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Sodio stibogluconato	i.m. o e.v.	0,6-2 per 10-30 giorni	–	–	2 per 10-30 giorni
Sodio tiosolfato *	per os o e.v.	1-5	–	–	–
Sodio valproato	per os	0,4-0,5	0,8-1	0,5	1,5
Solapsone *	per os i.m. o sc.	0,50 0,50	1 1,50	1 –	3 –
Solfarsfenamina	i.m. o s.c.	0,10-0,60	0,10-0,60	–	–
Solfisomidina	per os	1	2	2	3
Solfo precipitato	per os	0,50-1	2	–	–
Solfo sublimato	per os	0,50-2	4	–	–
Somatostatina	e.v.	0,250 mg	–	–	0,003
Somatotropina umana	i.m.	–	8-12 U. ogni 7 giorni in 2-3 dosi		–
Somatropina	s.c. o i.m.	0,6 U./kg per sett. o 12 U./m ² per sett. in 3 somm. singole a giorni alterni di 0,2 U./kg o 4 U./m ² . La dose settimanale può essere suddivisa in 6 - 7 somministrazioni per s.c..			
Sorbitolo	per os rettale	–	–	50 50	50 50
Sorbitolo, liquido parzialmente deidratato	per os o rett.	–	–	50	50
Sotalolo *	per os e.v. lenta	–	–	0,5 0,200 0,280 0,050	0,5 0,200 0,280 0,050
Sparteina solfato	per os i.m. o s.c.	0,05-0,10 0,05	0,20 0,10	0,20 0,10	0,40 0,30
Spectinomina cloridrato (come spectinomina)	i.m.	2	2-4	4	4 per 3 giorni
Spiramicina	per os	1	3	–	4
Spirapril cloridrato monoidrato	per os	–	–	0,006	0,006
Spirolattone	per os	0,025	0,10	0,05	0,10
Stanozololo	per os i.m.	0,002 0,05 ogni 2-3 sett.	0,005 –	– –	0,006 –
Stibofene	i.m.	0,10	–	0,30	–
Stilbestrolo *	per os	0,0001-0,00025	0,0005-0,001	–	–
Stramonio foglia	per os	0,3	0,5	0,5	0,5
Stramonio polvere	per os	0,10	0,20	0,20	0,50
Streptochinasi *	fleboclisi e.v.	250.000-600.000 U. in sol. salina o glucosata in 30-60 m.			600.000 U.
Streptomicina solfato	i.m. o s.c.	0,25-0,50	1	0,50	2
Strienina nitrato *	i.m. o s.c. e.v.	0,001 –	0,002 –	0,002 –	0,004 0,01

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Strofantina K	e.v.	0,00006-0,000125-0,00025	0,0005	0,00025	0,0005
Succinilcolina cloruro	e.v.	0,01-0,02	–	0,04	–
Succinilsulfatiazolo	per os	1-3	8-12	–	–
Sufentanil citrato	e.v.	–	–	–	0,000030/kg
Sulfacetamide sodica	oft.	pom.10%osol.10-30%	–	–	–
Sulfadiazina	per os	1-1,50	6	–	–
Sulfadimetoxina	per os	0,50	1	–	–
Sulfadimidina	i.m. profonda - e.v.	–	–	2,8	7,0
Sulfadoxina *	per os	0,5	1,0	–	2,0
Sulfafurazolo	per os	2-4 inizialmente, quindi 0,75-1 ogni 4 h o 1-2 ogni 6 h			12
	oft.	pom. o sol. 10%	–	–	–
	vag.	crema 10%	–	–	–
Sulfaguanidina	per os	1-2	6-10	–	–
Sulfamerazina	per os	1-1,50	6	–	–
Sulfametazina	per os	1-1,50	6	–	–
Sulfametizolo	per os	0,1	0,25	0,2	0,5
Sulfametopirazina	per os	0,50	1	–	–
Sulfametoxazolo	per os	2 inizialmente, quindi 1 ogni 8-12 h.		–	3
Sulfametoxipiridazina	per os	0,50	1	–	–
Sulfasalazina	per os	1 - 2	3 - 6	2	10 - 12
Sulfatiazolo	per os	1-1,50	6-8	–	–
Sulfinpirazone	per os	0,1	0,4	0,2	0,8
Sulindac	per os	0,2	0,4	–	–
Sulpiride	per os	0,05-0,1	0,3	0,2	0,6
Sumatriptan succinato	per os	–	–	0,14	0,42
	s.c.	–	–	0,008	0,017
Suramina sodica	e.v.	0,50-1	0,50-1	1	2
Suxametonio cloridrato	e.v.	–	–	0,100	0,5/h
	i.m.	–	–	0,004/kg	0,150
Suxibuzone	top.	–	–	7%	
Tamoxifene citrato	per os	0,01	0,02	0,02	0,04
Tecnezio (^{99m} Tc) gluconato p.i.	per os	0,02	–	–	0,06
Temazepam	per os	–	–	0,020	0,040
Tenoxicam	per os	–	–	0,020	0,020
Teobromina	per os	0,20-0,40	0,80-1	0,50	1,50
Teofillina	per os	0,10-0,20	0,20-0,40	0,30	1

Table

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Teofillina-etilendiammina	e.v. lenta(20-30 min.) per os (dopo i pasti) per os (rilascio lento) rett.	0,0025-0,003/kg 0,1-0,3 0,225-0,7 0,3	0,0025-0,003/kg 0,3-0,9 0,225-0,7 0,3	0,005-0,006/kg 0,1-0,3 0,225-0,7 0,3	0,005-0,006/kg 0,4-1,2 0,45-1,4 0,9
La velocità di infusione non deve superare 0,025/min. E' raccomandato il dosaggio della teofillina sierica; la dose va ridotta se la concentrazione supera 0,00002/ml.					
Teofillina monoidrata	per os e.v. lenta (20-30 min.)	0,06-0,2 0,004-0,005/kg	0,18-0,6 -	0,25 -	1 -
La velocità di infusione non deve superare 0,02/min. La concentrazione sierica alle dosi massime non deve superare 0,00002/ml.					
Terbutalina solfato	per os i.m. inal.	0,005 0,00025	0,0075 0,001	0,01 0,0005	0,015 0,002
aerosol 10 ml con 0,1. 1 - 2 erogazioni 3 v. al di.					
Terconazolo	top. (vaginale)	-	-	0,080 di una crema allo 0,8%	
Terfenadina	per os	0,06	0,12	0,12	-
Terpina idrata	per os	0,10-0,20	0,40	0,30	0,60
Testosterone *	i.m. impianto s.c. transdermico	- - -	- - -	0,025 0,6 0,015	0,025 0,6 0,015 (234)
Tetracaina cloridrato	top. rett. parent.	pom., sol. 0,5-3%; past. 0,06-0,5 supp. 1-3% 0,005-0,09		- - -	- - 0,25
Tetraciclina	per os i.m. e.v.	0,25-0,50 0,20-0,50 0,50	1-2 0,80 1	- - -	4 0,80 2
Tetraciclina cloridrato	per os	0,25-0,50	1-1,50	0,50	3
Tetracosactide	i.m. e.v. flebo	Come diagnostico: 0,00025 per fleboclisi lenta o i.m.. Per uso terapeutico 0,00025 al di per e.v. lenta. In oncologia da 0,0005 a 0,002 al di i.m. o e.v., seguite da 0,0005-0,0001 ogni 24-48 h.			
Tetrazepam	per os	-	-	0,050	0,150
Tiabendazolo	per os	0,025/kg	0,05/kg per 2-4 giorni		3
Tiamazolo	per os	-	-	0,060	0,060
Tiamfenicolo	per os	0,25-0,50	1,50	-	-
Tiamfenicolo glicinato sodico	i.m. o rett.	0,50	1,5	0,50	3
Tiamina cloridrato	per os	0,01-0,025	0,05-0,10	-	-
Tiamina nitrato	per os	0,01-0,25	0,05-0,1	-	-
Tianeptina sodio *	per os	-	-	0,0125	0,0375
Tiapride cloridrato	per os	-	-	0,44	0,44
Ticarcillina sodica	e.v. o i.m.	3,0	9,0	-	18,0
Ticlopidina cloridrato	per os	0,25	0,5	0,5	0,5
Tilidina cloridrato emidrato	e.v., i.m. o s.c. supposte per os	-	-	0,400 0,075 0,050	0,400 0,300 0,200
Timolo	per os	0,05-0,10	1-2	1	5
Timololo maleato *	per os	0,01-0,03	0,02-0,06	0,03	0,06

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Tinidazolo	per os	2,0	–	–	–
Tinzaparina sodica	s.c.	–	–	3500 U	–
Tioconazolo *	top. vag.	–	–	0,300	0,300
Tiomersal	top.	–	–	0,1%	
Tiopentale sodico	e.v.	0,10-0,50	–	–	–
Tioridazina cloridrato *	per os	0,025-0,10	0,075-0,30	–	0,40-0,80
Tiroide secca	per os	0,05-0,10	0,25	0,20	0,40
Tirotricina *	per os	–	–	0,0025	–
Tiroxina *	per os e.v.	– –	– –	0,000194 0,000486	0,000194 0,000486
Tobramicina	e.v.	0,001-0,003/kg	0,003/kg	0,005/kg	0,005/kg
Tolazolina cloridrato	per os	0,05	0,20	–	–
Tolbutamide	per os	0,50-1	1-2	–	–
Tolnaftato	top.	soluzione, polvere, crema all'1%. Si applica 2 v. al dì per 2-6 settimane			
Tomazepam	per os	0,01	0,02	–	0,04
Tramadol cloridrato *	per os e.v. rett.	– – –	– – –	0,100 0,100 0,100	0,400 0,600 0,400
Trapidil	per os	–	–	0,4	0,4
Tretinoina	top.	pomata e lozione allo 0,05%		–	–
Triamcinolone	per os	–	–	0,048	0,048
Triamcinolone acetone	top. i.m. i.a. i.d.	pom. (ung., crema, gel) o loz. 0,025-0,1% (3-4 v. nelle 24 ore); aerosol 0,1% (3-4 v. nelle 24 ore)			
		0,04-0,08 0,0025-0,015 fino a 0,001	– – –	– – –	– – –
Triamcinolone esacetone	per os i.m. i.art. i.d. top.	0,004-0,048 0,04 0,0025-0,04 0,001-0,003/sito iniezione crema, lozione, unguento allo 0,1-0,5%	0,004-0,048 0,04 0,0025-0,04 – –	– 0,04-0,1 – 0,005/sito iniezione	– 0,04-0,1 – –
Triamterene	per os	0,05	0,15	0,10	0,25
Tribenoside	per os	–	–	0,800	0,800
Triesifendile cloridrato	per os	–	–	0,0038	0,015
Trifluoperazina cloridrato (come trifluoperazina) *	per os i.m.	0,001-0,005 0,001-0,002	0,024-0,01 0,004-0,01	– –	0,04 0,01
Triflusal	per os	–	–	0,9	0,9
Trigliceridi di acidi omega 3	per os	–	–	5	10
Triiodotironina sodica	per os	µg 5-20	µg 20	µg 20	µg 100
Trimetadione *	per os	0,20-0,30	0,90-1,2	1,2	2,4
Trimetafano camsilato	e.v.	0,003-0,004/min	0,05-1/2 h	–	1

Tabelle

Segue: TABELLA N. 8

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Trimetoprim *	per os	0,16	0,32-0,64	–	0,64
Trimipramina maleato	per os o i.m.	0,025-0,05	0,075-0,125	0,150	0,3
Triparsamide *	e.v.	1-2	–	–	–
Tripsina	varie: i.m., inal., tamponi, irr., intrapl., per os (ass. a chimotripsina)	50.000-100.000.000 U.A.	150.000.000-300.000.000 U.A.	–	–
Triptofano *	per os	–	–	1	6
Trolamina	top. (oft.)	–	–	10 %	
Trometamolo	e.v.	3,6	10,0	–	30,0
Tropicamide	top. (oft.)	soluzione allo 0,5-1%		–	–
Tubocurarina cloruro	e.v.	0,006-0,009	–	–	–
Ubidecarenone	per os	–	–	0,050	0,050
Urea	e.v.	–	–	2/kg	2/kg
Uretano	per os	0,50	3	1	5
Urochinasi	e.v.	–	4.400 U./kg/h per 12 ore	–	4.400 U./kg/h per 72 ore
Urofollitropina	s.c. o i.m.	75-150 U.	–	–	–
Valeriana estratto idroalcolico molle	per os	0,50	2	2	6
Valina	fleboclisi	In combinazione con altri amminoacidi nelle soluzioni perfusionali per la nutrizione parenterale			
Vancomicina cloridrato	per os o e.v.	0,25	0,75	0,5	2,0
Vasopressina	i.m. o s.c.	5-10 U.	20 U.	–	–
Verapamil cloridrato	per os	0,04-0,16	0,12-0,48	0,16	0,48
Vinblastina solfato *	e.v.	Dose iniz: 0,00037/m ² o 0,0001/kg con incremento settimanale di 0,0018-0,0019/m ² o 0,00005/kg, fino a un massimo di 0,0185/m ² o 0,0005/kg. Dosi pediatriche circa la metà			
Vincristina solfato *	e.v.	0,0004-0,0014/m ² o 0,00001-0,00003/kg per settimana come dose singola. Dosi pediatriche circa la metà			
Vindesina solfato	e.v.	–	–	0,003/m ²	–
Vinorelbina tartrato *	e.v.	–	–	0,04155/m ²	0,04155/m ²
Violetto di genziana *	per os	0,06	0,18	–	–
Vitamina A *	per os	–	–	300000 UI	300000 UI
Vitamina E acetato	per os s.c. o i.m.	0,01-0,10 0,03-0,30	0,03-0,20 0,06-0,60	– –	– –
Warfarin sodico *	per os	0,005	0,01	0,01	0,015
Warfarin sodico clatrato	per os	La dose abituale è 0,01 al di per 2 giorni, con dose di mantenimento di 0,003-0,009 al di. Durante il trattamento è necessario il monitoraggio della capacità coagulante plasmatica (PTR).			
Xilometazolina cloridrato	top.	–	–	Naso: 0,1% Occhio: 0,05%	
Xiloso	per os	–	–	25	25
Zidovudina	per os	0,1-0,25	0,5-1,25	–	–

Segue: **TABELLA N. 8**

Sostanza	Vie di somministrazione	Dosi abituali		Dosi massime	
		Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi	Per ogni dose grammi	Nelle 24 ore grammi
Zinco acetato diidrato	top.	–	–	Sol 1,2%	
Zinco cloruro	top. odont.	sol. 1-2% sol. 10%	– –	– –	– –
Zinco undecilenato	top.	pom. 8-22%	–	–	–
Zolfo	top.	–	–	10%	
Zolpidem tartrato *	per os	–	–	0,010	0,010
Zopiclone	per os	0,0075	–	–	–
Zuclopentixolo decanoato *	i.m.	–	–	0,6	–

ABBREVIAZIONI

a. anno/i
ad. adulti
ass. associazione
e.v. uso endovenoso
g. giorno
gg. giorni
gt. goccia
gtt. gocce
i.m. uso intramuscolare
inal. inalazione
inst. instillazione
oft. oftalmico
ped. pediatrico
perf. perfusione
pom. pomata, preparazione semisolida per applicazione cutanea
rit. ritardo
s.c. uso sottocutaneo
s.l. sublinguale
sett. settimana
sol. soluzione
top. topico
u. unità
ung. unguento
v. volta/e
vag. vaginale

NOTE

Talvolta le dosi massime, se non necessarie, non sono state inserite. Sono state riportate dosi per sostanze non inserite nella Farmacopea, in particolare per quelle previste nella Tabella n. 7 e commercializzate in Italia, o non più iscrittevi, e ciò per completare la trattazione per sostanze frequentemente prescritte o di cui è necessario conoscere la posologia. Per alcune sostanze, anche se iscritte nella Farmacopea, non si è ritenuto opportuno l'inserimento delle dosi. Non sono state inserite le dosi per le sostanze impiegate come additivi, coadiuvanti, eccipienti, ecc.

Se non diversamente indicato tutte le dosi sono espresse in grammi.

Acamprosato calcico. In dosi suddivise.

Acido acetilsalicilico. Dosi anche superiori, basate sul controllo della salicilemia.

Acido etacrिनico. Assumere durante o subito dopo i pasti. In casi gravi si possono somministrare fino a 0,4.

Acido iopanoico. La dose abituale per la radioscopia biliare è di 3 g da somministrare con un pasto leggero privo di grassi 10-14 ore prima dell'esame ai raggi X. Per la visualizzazione degli acidi biliari la dose abituale è di 1 g 3 volte al giorno.

Acido ioxaglico. Volume per kg da prelevare da una soluzione di 100 ml contenente ioxaglato di sodio 19,65 g e ioxaglato di metilglucamina 39,30 g. Non si devono iniettare più di 100 ml di soluzione per volta.

Acido ossolinico. Preferibilmente dopo i pasti.

Acido tranexamico. In pazienti con insufficienza renale: per concentrazione di creatinina sierica 120-250 nmol/ml, 0,025/kg e 0,050/kg per os e 0,010/kg e 0,020/kg per e.v.; 250-500 nmol/ml, 0,025/kg e 0,025/kg per os e 0,010/kg e 0,010/kg per e.v.; oltre 500 nmol/ml, 0,0125/kg e 0,0125/kg per os; 0,005/kg e 0,005/kg per e.v.

Acitretina. Per la malattia di Darier's la dose iniziale è 0,010. Il trattamento non dovrebbe andare oltre i 6 mesi in ogni caso.

Adenosina. Se la dose è inefficace entro 1-2 min, somministrare 0,006 e se necessario, in caso di inefficacia, dopo 1-2 min 0,012.

Albendazolo. In enterobiasi, ascariasi, trichuriasi.

Alfacalcidolo. Negli anziani 0,0000005.

Alfetanile cloridrato. La dose è in funzione dell'anestesia che si vuole ottenere e può essere ripetuta ogni 10-15 min. L'ultima dose va somministrata 10 min prima della fine dell'intervento chirurgico. E' antagonizzato dagli antagonisti oppiacei. Da usare sotto stretto controllo medico.

Alfuzosina cloridrato. Ridurre in soggetti epatici e renali.

Alluminio ossido idrato. Solo per trattare l'iperfosfatemia.

Aloperidolo decanoato. In pazienti che ricevono una terapia orale ormai stabilizzata e che richiedono una terapia a lungo termine.

Alteplase iniettabile. In embolia polmonare: 0,1 e.v. in 24 ore. In IMA: 0,0015/kg (in pazienti che pesano meno di 67 kg) fino ad un massimo di 0,1 totali. La dose 0,1 va somministrata in questo modo: 0,010 bolo e.v., quindi 0,050 infusi in 1 ora e quindi 0,040 infusi in 2 ore.

Amantadina cloridrato. Come antivirale la dose abituale è di 0,2 g al giorno.

Ambroxolo cloridrato. La terapia di mantenimento per os è di 0,3-0,03 due volte al giorno o, per la forma ritardo, di 0,075 al giorno. Dosi unitarie inferiori a 0,075, possono essere dispensate senza prescrizione.

Amfotericina B. Esistono somministrazioni non convenzionali con liposomi: 0,001/kg/die fino a 0,003/kg/die in 30-60 min.

Amikacina. Somministrazione i.m.: nelle infezioni urinarie non complicate è stata suggerita una dose di 0,25 due volte al giorno. Somministrazione e.v.: Diluire in 100-200 ml e infondere in 30-60 min. Concentrazione plasmatica massima 0,000030-0,000035.

Amiodarone cloridrato. Abitualmente si perfondono in 250 ml di sol. glucosata per un periodo da 20 min a 2 ore, ripetendo la perfusione fino a 3 v. nelle 24 ore e fino a un massimo di 1,2 g in 500 ml di sol. In casi di emergenza la dose abituale può essere di 0,005/kg (0,3-0,45) per un periodo da 30 s a 3 min, eventualmente ripetendo la somministrazione ancora 1 volta, dopo 15 min.

Amitriptilina cloridrato. La dose massima di 0,3 va somministrata solo in ospedale.

La dose abituale può essere successivamente aggiustata secondo le necessità e la tollerabilità fino a 0,15 nelle 24 ore. Dosi di mantenimento: 0,5-0,1 nelle 24 ore.

Amoxicillina. Le dosi abituali più alte si impiegano solo nelle infezioni più gravi. Dosi più alte sono usate nei casi di salmonellosi.

Antazolina solfato. La dose massima nelle 24 ore va usata per brevi periodi di tempo e nei casi più gravi.

Per inst. nasali o auricolari o per inal. Si usa la sol. o dispersione solida allo 0,5%.

Apomorfina cloridrato. In una dose unica: se la prima dose non produce il vomito, non va somministrata una seconda dose.

Aprotinina. Nel trattamento dell'emorragia da iperfibrinolisi, si somministrano 500.000-1.000.000 U. (fino a 100.000 U./min con paziente in posizione supina), eventualmente seguiti da 200.000 U. ogni ora fino all'arresto dell'emorragia. In caso di interventi a cuore aperto, si somministrano 2.000.000 U. (in 200 ml) dopo l'induzione dell'anestesia e prima della sternotomia. Al fine di evidenziare eventuali reazioni allergiche la somministrazione deve essere frazionata secondo il seguente schema: 50.000 U. in 5 min ed il resto dopo un intervallo di 20 min. Segue quindi l'infusione di 500.000 U. per h fino al termine dell'intervento (sutura della cute). Successivamente, può essere somministrata una dose aggiuntiva di 500.000 U. per ogni litro di sangue trasfuso.

Atropina solfato. La dose massima va ridotta nel caso di associazione con taluni anestetici generali.

A causa della scarsa solubilità l'uso della base libera è difficoltoso. È stato segnalato l'uso di una soluzione oleosa (1%) per uso oftalmico.

Azatioprina. Dose di mantenimento: 0,001-0,002/kg o 0,045/m² nelle 24 ore.

Azitromicina. Nella gonorrea non complicata.

Bacitracina. Per i.m. in casi di germi sensibili soltanto alla bacitracina.

Bacitracina zinco. Spesso in associazione con altri antibiotici (Neomicina-Polimixina) e/o corticosteroidi.

Bambuterolo cloridrato. Da assumere prima di coricarsi.

Beclometasone dipropionato. Top.: pom. allo 0,025-0,5%.

Benfluorex cloridrato. Somministrare durante i pasti.

Benperidolo. In dosi suddivise. Ridurre nei soggetti anziani o debilitati.

Benserazide cloridrato. Si possono anche somministrare (con molta attenzione) 0,25 in un giorno, quando non si riesce ad ottenere un controllo ottimale della patologia.

Betametasona dipropionato. Top.: pom. allo 0,025-0,5%.

Betanidina solfato. La dose iniziale di 0,01 può essere aumentata di 0,005 (3 v. nelle 24 ore); nei casi più gravi quella di 0,002 di 0,01-0,02 ogni 4-6 ore.

Bromazepam. Interazioni con alcool ed altri farmaci sedativi. Dosi ridotte per pazienti anziani.

Bromexina cloridrato. Dosi pediatriche (per os): 10 gtt. 3 v. al giorno della soluzione al 2% (lattanti), 20-40 gtt. 3 v. al giorno (da 2 a 5 a.) e 2-4 ml di sol. o 0,008 3 v. al giorno (sopra i 5 a.).

Bromocriptina mesilato. Le dosi variano secondo le indicazioni. Come antiparkinsoniano è necessario seguire uno schema posologico ben preciso. Somministrare sempre ai pasti.

Bromosolfotaleina sodica. Come sol. al 5% per e.v. in circa 3 min .

Bromperidolo. Ridurre il dosaggio nei soggetti anziani.

Bumetanide. La dose di 0,002-0,005 può essere somministrata per fleboclisi in sol. diluita con sol. neutra salina di glucosio, in 30-60 min.

Bupivacaina cloridrato. Per anestesia zonale si usa la sol. allo 0,25%.

Buprenorfina cloridrato. Vedi punto 1) della tabella n. 5.

Busulfano. Si somministra in ragione di 0,004-0,006/m² o 0,000065-0,0001/kg nelle 24 ore, finché la conta leucocitaria raggiunge 15.000/mm³. Durante la remissione il trattamento è ripreso quando la conta mensile leucocitaria raggiunge 50.000/mm³. Dose di mantenimento: per os da 0,002 (2 v. alla sett.) a 0,004 nelle 24 ore. Dosi più elevate fino a 0,006-0,008/kg nelle 24 ore possono essere somministrate, con rischio però di danni irreversibili.

Calcifediolo. A giorni alterni.

Calcio gluconato. Interazioni con glucosidi della digitale, tetracicline. Per somministrazioni al di sotto dei 12 anni controllare la letteratura.

Calcitonina di salmone. Da 50 U., 3 v. nelle 24 ore a 100 U. nelle 24 ore. Nell'ipercalcemia fino a 400 U. ogni 6-8 ore o 4 U./kg ogni 12 ore, aumentabile fino a 8 U./kg ogni 6 ore.

Carbamazepina. La dose iniziale è di 0,4 g al giorno, in 2 dosi suddivise, aumentabili di 0,2 g al giorno ad intervalli di 1-2 settimane e somministrate in 3 o 4 dosi suddivise. La dose di mantenimento è di 0,8-1,2 g al giorno. Bambini metà dose.

Carbenicillina sodica. Va iniettata lentamente, in 3-4 min; per fleboclisi, va somministrata al massimo in 40 min.

Carisoprodolo. Ridurre le dosi negli anziani.

Carteololo cloridrato. Topico. Fino a due volte al giorno.

Per os. Nell'insufficienza renale aumentare l'intervallo tra i dosaggi: 48 ore se creatininemia: 20-60 ml/min, 72 ore se creatininemia: < 20 ml/min.

Carvedilolo. Nell'insufficienza cardiaca se il peso del paziente è < 85 Kg, usare le dosi 0,025/0,050.

Cefalotina sodica. Per e.v. va somministrata in 2-5 min; si usa anche per infusione intermittente o continua. Per i.m. è dolorosa.

Cefamandolo nafato. La dose singola deve essere ridotta in caso di insufficienza renale: 0,75-2 ogni 6 ore per pazienti con una clearance della creatinina tra 50 e 80 ml/min; 0,75-2 ogni 8 ore per pazienti con una clearance della creatinina tra 25 e 50 ml/min; 0,5-1,25 ogni 8 ore per pazienti con una clearance della creatinina tra 10 e 25 ml/min; 0,5-1 ogni 12 ore per pazienti con una clearance della creatinina tra 2 e 10 ml/min; 0,25-0,75 ogni 12 ore per pazienti con una clearance della creatinina minore di 2 ml/min.

Cefapirina sodica. Per e.v. va somministrata in 2-5 min; si usa anche per infusione intermittente o continua. Per i.m. è dolorosa.

Tutte le dosi vanno ridotte in caso di insufficienza renale.

Cefazolina sodica. Per e.v. va somministrata in 2-5 min; si usa anche per infusione intermittente o continua. Per i.m. è dolorosa.

Ceftazidima. La dose deve essere ridotta in caso di insufficienza renale: 1 ogni 12 ore per pazienti con una clearance della creatinina tra 31 e 50 ml/min; 1 ogni 24 ore per pazienti con una clearance della creatinina tra 16 e 30 ml/min; 0,5 ogni 24 ore per pazienti con una clearance della creatinina tra 6 e 15 ml/min; 0,5 ogni 48 ore per pazienti con una clearance della creatinina minore di 5 ml/min.

Cefuroxima acetile. In infezioni urinarie non complicate, nelle infezioni respiratorie ed infezioni severe.

Ogni dose va ridotta in caso di insufficienza renale.

Nella meningite: 3 ogni 8 ore.

Celiprololo cloridrato. Le dosi vanno ridotte del 50% se clearance della creatinina è 15-40 ml/min; il farmaco non va somministrato se la clearance della creatinina è < 15 ml/min.

Chimotripsina. L'impiego principale è quello oftalmico. Per os è usata associata, normalmente, a tripsina o ad altri enzimi digestivi.

Cianocobalamina. Dosi massime. Sino a 500 ug per talune indicazioni.

Ciclofosfamide. Per e.v.: 0,04-0,05/kg in dosi divise per 2-5 giorni o 0,002-0,006/kg in dose unica nelle 24 ore. Dosi di mantenimento: 0,01-0,015/kg in dose unica ogni 7-10 giorni. o 0,003-0,005/kg (2 v. alla sett.) o 0,0015-0,003/kg nelle 24 ore; si usano anche dosi di 0,02-0,04/kg (1-1,5/m²) in dose unica ogni 10-20 giorni o di 0,06-0,08/kg in dose unica ogni 3-4 sett. Dosi più elevate possono essere usate; in certe condizioni fino a 2-5/m², anche in associazione con altri antineoplastici o terapia radiante, ogni 3-4 sett.

Ciclosporina. Interazioni con amfotericina B, amminoglicosidi, antagonisti del calcio, antifecundativi, doxiciclina, eritromicina, induttori degli enzimi del metabolismo epatico, ketoconazolo, trimetoprima. Prudenza in caso di pazienti con insufficienza renale; la posologia deve essere adattata secondo il caso e/oppure il medicamento è tossico per i reni.

Cilazapril. La dose singola va ridotta a 0,0005 in pazienti con insufficienza renale o che assumono diuretici.

La dose massima nelle 24 ore si riferisce al dosaggio utilizzato nella terapia dell'insufficienza cardiaca.

Cimetidina. Dose di mantenimento: 0,4 nella notte oppure ogni 12 ore.

Ciprofibrato. Il farmaco non va utilizzato in caso di insufficienza renale.

Ciproterone acetato. La dose massima nelle 24 ore può essere aumentata, secondo necessità, dopo 30 giorni, a 0,2-0,3 in dosi divise.

Cisplatino. La somministrazione può essere effettuata in dose unica di 0,05 - 0,120/m² o in dosi da 0,015 - 0,020/m² al dì per 5 giorni. In associazione con altri chemioterapici le dosi vanno diminuite (generalmente 0,02/m² al dì per 5 giorni). Si somministra per perfusione in soluzione salina o glucosata (2 litri circa).

Citarabina. E' necessario controllare giornalmente la crasi ematica. Le dosi si riferiscono al trattamento continuo. Quelle iniziali per e.v. rapida sono di 0,002/kg al giorno da continuare per almeno 10 giorni, che può essere aumentata dopo tale tempo a 0,004/kg. Quelle iniziali per fleboclisi sono di 0,00025 - 0,001/kg al giorno in 1 ora, da continuare per 10 giorni. In caso di comparsa di gravi effetti inibitori sulla crasi ematica o di gravi segni di tossicità, il trattamento va sospeso e può essere ripreso solo quando i valori ematologici si normalizzano. E' utilizzabile esclusivamente in ambiente ospedaliero o in ambiente ad esso assimilabile. E' vietata la vendita al pubblico.

Claritromicina. Il trattamento orale dura 7-14 giorni.

L'infusione e.v. va fatta in 60 min. Ridurre le dosi in caso di insufficienza renale. Il trattamento e.v. dura 2-5 giorni.

Clavulonato di potassio. Per os. Nell'insufficienza renale 0,149 g due volte al giorno se il filtrato glomerulare è 10-30 ml/min; 0,149 g una volta al giorno se il filtrato glomerulare è < 10 ml/min.

Uso endovenosa. Nell'insufficienza renale 0,119 g due volte al giorno se il filtrato glomerulare è 10-30 ml/min; 0,119 g una volta al giorno se il filtrato glomerulare è < 10 ml/min.

Clindamicina fosfato. Dosi più elevate possono essere somministrate per via e.v. in caso di infezioni gravissime. Interazioni con curarizzanti. Prudenza nel caso di pazienti con insufficienza epatica; la posologia deve essere adattata secondo il caso e/oppure il medicamento è tossico per il fegato. Prudenza in caso di pazienti con insufficienza renale; la posologia deve essere adattata secondo il caso/e oppure il medicamento è tossico per i reni.

Clobazam. Dose massima nelle 24 ore per gli anziani 0,020 g.

Clofenotano. L'uso va riservato al cuoio capelluto. Non lavare la testa nelle 24 ore.

Clomifene citrato. La dose massima di 0,25 nelle 24 ore è riservata ai casi gravi ed eccezionali. Dosi superiori a 0,1 producono più frequentemente effetti secondari.

Clonidina cloridrato. Dose di mantenimento: 0,0003-0,0012 nelle 24 ore, aumentabile a 0,0018. La somministrazione deve essere sospesa gradualmente, in un periodo compreso fra 1-2 sett. e non rapidamente, per evitare la grave sindrome post-trattamento.

Clorambucile. Dose di mantenimento usuale: 0,002 nelle 24 ore; dosi più elevate (0,006 nelle 24 ore) possono essere richieste. Nelle 3-6 sett. la dose somministrata non dovrebbe superare 0,45.

Clordiazepossido. Negli stati di eccitazione acuta si possono somministrare dosi giornaliere superiori da 0,05 - 0,1 fino a 0,3, riducendole poi alle dosi normali quando si è ottenuto l'effetto desiderato. Può causare sonnolenza. Durante il trattamento evitare di guidare l'auto o usare macchinari. L'uso protratto con dosi elevate può comportare dipendenza fisica.

Clorfenamina maleato. La dose abituale di 0,012 g si riferisce alle preparazioni ritardo. Per bambini sotto i 12 anni, 0,00035/kg al giorno in 4 dosi s.c. suddivise.

Codeina. Calcolata come base anidra; 1 mg di base anidra corrisponde a 1,36 mg di codeina fosfato emiidrato ed a 1,42 mg di codeina fosfato sesquidrato. Dosi abituali e massime per bambini al di sotto di 12 anni: controllare la letteratura.

Codeina fosfato emiidrato. Calcolato come base (1 mg di base corrisponde a 1,3 mg di fosfato e a 1,18 mg di cloridrato). Per somministrazioni al di sotto dei 12 anni controllare la letteratura.

Codergocrina mesilato. Da somministrare prima dei pasti.

Colestiramina. In iperlipidemie e diarrea. Le dosi vanno incrementate lentamente e possono essere suddivise in quattro parti.

Colistina solfato. La dose abituale può essere anche raddoppiata a 1.000.000 U. In pediatria da 250.000 U. a 500.000 U. 3 v. al giorno fino a 15 kg di peso e da 750.000 U. a 1.500.000 U. 3 v. al giorno fino a 30 kg di peso. 1 mg corrisponde a 19.000 U.

Daunorubicina cloridrato. La dose massima, in alcuni casi, va limitata a 0,45/m².

Decametonio ioduro. Le dosi si riferiscono all'impiego in chirurgia; l'effetto di una singola somministrazione dura da 15 a 25 min e una dose supplementare di 0,0005-0,003 può essere somministrata se richiesto.

Deferoxamina mesilato. Dosi individuali a seconda della quantità di ferro assorbita. Interazioni con eparina, proclorperazina, vitamina C.

Desametasona acetato. Le dosi sono riferite a desametasone.

Desipramina cloridrato. La dose iniziale giornaliera di 0,025-0,075 può essere aumentata, se necessario, fino a 0,15-0,20. In alcuni casi dosi fino a 0,40 possono essere necessarie, ma solo in ospedale. Dose di mantenimento: 0,10-0,15. Per i.m. può essere somministrata in dosi di 0,025-0,05, aumentabili ad un massimo di 0,10 nelle 24 ore.

Deslanoside. La dose di 0,0008 è quella iniziale; la dose di mantenimento è di 0,0004 ogni 2-4 ore fino a un massimo di 0,002 g.

Destropropoxifene cloridrato. Può causare sonnolenza. Durante il trattamento evitare di guidare l'auto o usare macchinari. L'uso protratto con dosi elevate può comportare dipendenza fisica.

Dexpantenolo. Interazioni con rilassanti muscolari (curari).

Dextrano 1 per preparazioni iniettabili. Da somministrare 1-2 min prima dell'infusione del dextrano. La dose si può ripetere, se necessario, dopo 48 ore.

Diazepam. Per e.v. si usa la sol. allo 0,5% (0,001/min). Per fleboclisi si prepara una sol. di 0,04 (8 ml sol. 5%) in non meno di 500 ml di sol. salina o glucosata, da usarsi entro 6 ore.

Diazossido. La dose iniziale abituale è di 0,001/kg ogni 8 ore, aggiustata secondo la risposta clinica; quella di mantenimento varia da 0,003 a 0,008/kg divisa in 2 o 3 dosi eguali, ogni 12 o 8 ore rispettivamente.

Diclofenac sodico. Prudenza nel caso di pazienti con insufficienza epatica e con lesioni al tubo digerente; la posologia deve essere adattata secondo il caso e/oppure il medicamento è tossico per il fegato.

Dienestrol. Per talune indicazioni: 0,015-0,03 nelle 24 ore.

Dietilcarbamazina citrato. Iniziare il trattamento con le dosi più basse ed aumentare gradualmente. Nel trattamento della filiasi la dose abituale è di 6 mg/kg al giorno in 3 dosi per 3 sett.; nella profilassi è di 50 mg al mese. Nell'oncocercosi va usata con precauzione e sotto diretto controllo medico. Nella profilassi delle loiasi la dose è di 0,10 a giorni alterni.

Dietilstilbestrolo. Le dosi massime riportate per le 24 ore si riferiscono all'impiego come antineoplastico.

Diflusinal. Interazioni con alcool, antiacidi, antidiabetici orali, antinfiammatori non steroidei, codeina, cumarine, diuretici, metotrexato, paracetamolo, probenecid.

Digitale foglia. Dose di mantenimento abituale nelle 24 ore per os: 0,10-0,20.

Digitossina. Dose di mantenimento abituale nelle 24 ore per os: 0,0001-0,0002.

Digossina. Dose di mantenimento abituale nelle 24 ore per os: 0,00025-0,0005.

Diidrocodeina idrogeno tartrato. Somministrare dopo i pasti.

Diidroergotamina cloridrato. Le dosi si riferiscono al mesilato. La posologia è individuale e deve essere adattata alle condizioni del paziente.

Diidroergotamina tartrato. La dose di 0,002 iniziale può essere seguita da eguali dosi ogni 30 min fino a un massimo di 0,006 al giorno e di 0,01 in una settimana.

Dimenidrinato. Contro il mal di moto 0,05, 30 min prima del viaggio; eventualmente ripetere la somministrazione ogni 4 ore senza superare 0,30 al giorno. In pediatria come antiemetico e antivertigine: da 2 a 6 anni la dose è di 0,0125-0,025 ogni 6-8 ore, fino a un massimo di 0,075 al giorno; da 6 a 12 anni: da 0,025 a 0,05 ogni 6-8 ore, fino a un massimo di 0,15 al giorno. Da usare con cautela in pazienti con glaucoma. Si sconsiglia l'uso durante la guida.

Dinoprostone. Le dosi più alte si utilizzano nelle primipare. Per aborto: 1 ml di una soluzione 0,000100/ml da somministrare per via extra amniotica. Si possono aggiungere 1 o 2 ml. Per infusione e.v. 0,000005/ml (alla velocità di 0,0000025/min per 30 min). In supposte vaginali, 0,020 ogni 3-5 h, fino ad un massimo di 0,240.

Dipiridamolo. In dosi suddivise.

Disopiramide. Le dosi per la forma ritardo si riferiscono a disopiramide base, ma viene somministrato il fosfato (0,25 di base corrispondono a 0,3225 di fosfato). La preparazione ritardo va somministrata ogni 12 ore.

Disulfiram. Le dosi si riferiscono alla posologia di attacco e vanno somministrate in una sola volta. La dose di mantenimento è da 0,2 a 0,4 al giorno. E' necessario seguire un adeguato schema terapeutico: per 3-4 giorni si somministrano 0,25-0,5 e successivamente 0,25 al giorno. Per evitare ricadute il trattamento può essere prolungato a 2-5 mesi. Non deve essere somministrato a pazienti con intossicazione acuta da alcool.

Dopamina cloridrato. Si somministra come sol. diluita in sol. glucosata o salina o lattata.

Dosulepina cloridrato. Dose massima nelle 24 ore: in caso di depressione grave.

Doxiciclina. Interazioni con antiacidi, barbiturici, carbamazepina, ferro.

Doxiciclina iclato. Per os: 0,1 ogni 12 ore il primo giorno, quindi 0,10-0,20 (1 v. nelle 24 ore) o 0,05-0,10

ogni 12 ore. Per e.v. (fleboclisi): 0,2 (1 v. nelle 24 ore) o 0,10 ogni 12 ore il primo giorno, quindi 0,10-0,20 (1 v. nelle 24 ore) o 0,05-0,10 ogni 12 ore.

Doxorubicina cloridrato. Va somministrata disciolta in sol. salina, evitando l'extravasazione. La somministrazione per fleboclisi va evitata o effettuata con cautela per diluizione in sol. salina o glucosata. E' irritante. Non va somministrata per s.c. o i.m.

Econazolo. Mattina e sera per 1-3 settimane.

Topico. Somministrato in ovuli; per un periodo massimo di due-quattro settimane.

Topico vaginale. Somministrato in crema. Per un periodo massimo di due settimane.

Econazolo nitrato. Per le preparazioni all'1% e per l'applicazione degli ovuli da 0,005 e 0,15, il trattamento consiste in un'applicazione da effettuare la sera per 3-15 giorni consecutivi. Per evitare ricadute va ripetuto dopo 1-3 mesi. Per uso esterno può essere dispensato senza prescrizione.

Edrofonio cloruro. Come antidoto ai bloccanti neuromuscolari.

Efedrina racemica cloridrato. Interazioni con antipressivi triciclici, antiipertensivi, glucosidi della digitale, levodopa. Prudenza in caso di pazienti con insufficienza renale; la posologia deve essere adattata secondo il caso e/oppure il medicamento è tossico per i reni.

Emetina cloridrato pentaidrato. Dose totale per un ciclo di 10-12 giorni: 0,01/kg (non più di 0,60 per ciclo di cura).

Epirubicina cloridrato. Dose da somministrare ogni 3 settimane. Ridurre in caso di terapia con altri antineoplastici, in caso di insufficienza epatica e negli anziani.

Esteri etilici degli acidi omega-3. Dose di mantenimento 1-1,5.

Estriolo. Nella terapia di sostituzione, il dosaggio è: 0,000250 - 0,002 al giorno, per os.

Estrogeni coniugati. In sintomi menopausali, insufficienza ovarica e per l'ipogonadismo femminile.

Estrone. Come antineoplastico, nel carcinoma prostatico inoperabile, la dose è di 0,002-0,004 (2-3 v. alla sett.). Come ormonico la dose di 0,0001-0,002 va somministrata 1 v. alla sett. Come dose singola o suddivisa.

Etambutolo cloridrato. In associazione con altri tubercolostatici. Le dosi per il trattamento successivo sono di 0,025-0,05/kg come dose singola nelle 24 ore per 60 giorni, quindi 0,015/kg nelle 24 ore.

Etamsilato. In caso di menorraggia o nel controllo delle emorragie post-operatorie.

Etilefrina cloridrato. La dose in preparazioni a rilascio controllato è di 0,025 una o due volte al giorno.

Etinilestradiolo. Dosi anche più elevate nel cancro della prostata.

Etoposide. Dose giornaliera da somministrare per 5 giorni. La terapia può essere ripetuta dopo 3-4 settimane.

Etosuccimide. Il trattamento deve essere adattato ai singoli pazienti. Per i bambini fino a 6 anni la dose raccomandata è di 0,25 al giorno, sopra i 6 anni di 0,5. La posologia viene aggiustata ogni 4 - 7 giorni con incrementi di 0,25. Se le dosi giornaliere superano 1 g per i bambini e 1,5 per gli adulti occorre una supervisione medica. Nel corso della terapia è necessario effettuare frequenti esami emocromocitologici.

Etretinato. La dose di mantenimento va stabilita in base all'effetto ottenuto; se è stato positivo la dose può essere ridotta a 0,0005/kg al giorno per altre 6-8 sett.; se è stato negativo dopo 4 sett. la dose può essere aumentata di 0,01 ogni 7 giorni fino a un massimo di 0,0015/kg al giorno. Può provocare malformazioni fetali: non somministrare in donne in età feconda o prescrivere contraccettivi fino a 2 anni dopo il trattamento. Da usare sotto diretto controllo medico.

Felce maschio estratto. Dose massima nelle 24 ore. Da somministrare in 3 porzioni ad intervalli di 1-2 ore.

Fenbufen. La dose massima nelle 24 ore può essere suddivisa così: 0,450 la mattina e la sera o 0,300 la mattina e 0,600 la sera.

Fenilefrina. Possibili interazioni con antidepressivi triciclici, antiipertensivi, glucosidi della digitale, levodopa.

Fenilefrina cloridrato. Inst. nasali: 2-3 gtt. sol. 0,25-0,5% ogni 3-4 ore. La sol. più concentrata si usa per oftalmoscopia (1gt.), ripetendo il trattamento in 5 min, se necessario.

Fenilpropanolamina cloridrato. E' utilizzato generalmente in associazione con antistaminici, analgesici-antipiretici, ecc.

Feniramina maleato. Con preparazioni ritardo: 0,075 una o due volte al giorno o 0,150 la sera.

Fenitoina. Iniettare a dosi minori di 0,050/min.

Fenolftaleina. Da assumere prima di coricarsi.

Fentanil. Intramuscolo. Nella premedicazione anestetica. Endovena. Dosi utilizzate nell'anestesia generale con respirazione assistita. In base alla risposta del paziente tale dose può essere anche superata.

Cerotti. La dose massima nelle 24 ore si raggiunge applicando più cerotti in grado di liberare una quantità di farmaco per ora di 0,000100 g.

Tabelle

Fisostigmina salicilato. La somministrazione s.c., i.m. o e.v. può essere ripetuta, se necessario, ogni 1-2 ore.

Flubendazolo. In singola dose in caso di enterobiasi.

Nelle ascariadiasi; usare la dose massima nelle 24 ore per tre giorni.

Flucitosina. La soluzione 1% da somministrare in 20-40 min. Ridurre le dosi in pazienti con insufficienza renale.

Fludrocortisone acetato. Per somministrazioni al di sotto dei 12 anni controllare la letteratura.

Flunarizina dicloridrato. Somministrare la sera.

Flunitrazepam. L'uso prolungato può condurre a dipendenza; si consiglia di sospendere il trattamento per alcuni giorni dopo 2-3 sett.; interrompere gradualmente. Da evitare durante la gravidanza e l'allattamento. La dispensazione deve essere limitata ad una sola confezione e comunque ad una quantità di principio attivo non superiore ai 60 mg.

Va somministrato la sera prima di coricarsi. La somministrazione agli anziani deve essere limitata a 0,5 mg e solo nei casi di insonnia ribelle a 1 mg. La posologia deve essere adattata individualmente e il suo uso deve essere limitato a brevi periodi evitando l'uso prolungato che comporta un controllo della crasi ematica e della funzionalità epatica. Durante il trattamento evitare di guidare l'auto o usare macchinari. L'uso protratto con dosi elevate può comportare dipendenza fisica.

Fluoresceina sodica. Per indagini oftalmiche.

Fluorouracile. La somministrazione per perf. viene ripetuta ogni giorno fino a comparsa dei sintomi tossici. La terapia di mantenimento per perf. o per e.v. si effettua per somministrazione e.v. di 0,001-0,002/kg o 0,2-0,4 per m² una volta la settimana. La terapia deve essere effettuata sotto controllo medico specialistico e il suo inizio dovrebbe aver luogo in ambiente ospedaliero. La preparazione iniettabile va conservata rigorosamente tra 18°C e 25°C. Nelle applicazioni topiche la superficie cutanea trattata non deve misurare più di 500 cm².

Fluspirilene. Dosi settimanali.

Foscarnet sodico esaidrato. Infondere in 30 min. Il trattamento dura 2-3 settimane.

Per pazienti con valore sierico di creatinina minore di 110 micromol/l. Quando il valore sierico di creatinina sale a 250 micromol/l, la dose decresce a 0,021/kg nelle 24 h. Il trattamento non è raccomandato quando il valore sierico di creatinina sale oltre i 250 micromol/l.

Furosemide. La posologia iniziale per os (come diuretico) di 0,02-0,08 può essere aggiustata e aumentata con altri 0,02-0,04 a 6 e 8 ore di intervallo. Quella per

i.m. analogamente di 0,02 ogni 2 ore. La dose di mantenimento, da somministrare in dose singola o suddivisa, va determinata caso per caso.

Gallamina triiodoetilato. La dose abituale è di 0,0005-0,001/kg.

Guanetidina monosolfato. La dose iniziale di 0,001-0,02 può essere incrementata di altri 0,01 ogni 7 giorni. La dose di mantenimento varia da 0,03 a 0,10 nelle 24 ore (dose singola). In pazienti ospedalizzati le dosi sono di 0,025-0,05 per os nelle 24 ore (dose singola), aumentabili di 0,025-0,05 ogni 24 ore o a giorni alterni. La somministrazione i.m. è riservata alle crisi ipertensive. In associazione con diuretici tiazidici si somministrano dosi più basse.

Guar galottomannano. Da assumere con o immediatamente prima dei pasti.

Glucagone umano. È possibile, in caso di assenza di effetto, ripetere la dose di 0,001 g ma è consigliata la somministrazione di una soluzione glucosata. Altri dosaggi sono possibili in caso la sostanza venga utilizzata in procedure diagnostiche.

Goserelina. Ogni 28 giorni fino a 3 mesi nell'utero fibroide, fino a 6 mesi in caso di endometriosi.

Nel cancro alla prostata la dose massima è 0,0108 g ogni 12 settimane.

Idromorfone cloridrato. Altri dosaggi sono possibili in seguito a modifiche della risposta da parte del paziente in corso di terapia.

Idroxocobalamina. Dose massima. Sino a 0,005 per talune indicazioni.

Ifosfamide. Somministrare in 5 giorni. La terapia può essere ripetuta dopo 2-4 settimane (dipende dai parametri ematici).

Interferone gamma-1b soluzione concentrata. Tre volte a settimana la dose 0,000050/m² in pazienti con superficie corporea >0,5 m².

Tre volte a settimana la dose 0,0000015/m² in pazienti con superficie corporea <0,5 m².

Iopamidolo. Uso ospedaliero. La posologia va stabilita caso per caso, secondo l'indagine da eseguire.

Ipecacuana polvere o estratto fluido. In 30-60 min.

Isoprenalina cloridrato. Sotto controllo ECG si somministra per infusione e.v. lenta, una sol. contenente 0,001-0,01 in 500 ml di sol. glucosata (0,000005-0,00004/min). Per i.m. o s.c. può essere somministrata in dosi di 0,0002, come sol. allo 0,02% (1 ml). Nelle emergenze per e.v. lenta, si somministra 0,0001-

0,00006, come sol. allo 0,002% (0,5-3 ml). Per via intracardiaca si somministrano 0,00002, come sol. allo 0,02% (0,1 ml) o 0,0001, come sol. allo 0,001% (10 ml).

Isradipina. Alla dose di 0,010 si arriva dopo 3-4 settimane. In caso di insufficienza renale o epatica e nei pazienti anziani non superare tali dosi.

Ivermectina. Non assumere cibo 2 ore prima e dopo la dose.

Ketobemidone cloridrato. Dosaggio somministrato con compresse a rilascio modificato.

Lattitolo monoidrato. Dosaggio indicato nell'encefalopatia epatica. Quando viene usato come lassativo le dosi orali sono comprese tra 10 e 20 in un'unica somministrazione.

Leuprorelina. Somministrazioni mensili di preparazioni depot.

Levodopa. La dose iniziale di 0,25 può essere incrementata di altri 0,1-0,75 ad intervalli di 3-7 giorni, come tollerato.

Linestrenolo. In associazione per la terapia estroprogestinica anche sequenziale.

Liotironina. Dose di mantenimento: 0,000025-0,0001 nelle 24 ore. La posologia dovrebbe basarsi sui controlli analitici.

Litio carbonato. Dose di mantenimento: 0,30 (3-4 v. nelle 24 ore); per la forma ritardo: 0,60 o 0,30 (2 o 3 v. nelle 24 ore).

Lobelina cloridrato. Per e.v. in soluzione diluita.

Loperamide ossido monoidrato. La dose 0,00208 seguita da 0,00104 g dopo ogni evacuazione di feci non formate. La somministrazione va interrotta in caso di evacuazioni con feci normali o dure.

Meclozina cloridrato. Nella prevenzione del mal di moto la dose usuale è di 0,025 - 0,05 in una sola volta, 1 ora prima di iniziare il viaggio.

Mefloquina cloridrato. Per il trattamento della malaria. Per la profilassi: 0,0055/kg una volta la settimana.

Mercaptopurina. In caso di mancato miglioramento e se la conta leucocitaria non si abbassa dopo 4 sett., si può aumentare la dose a 0,005/kg nelle 24 ore. Dose di mantenimento: 0,0015-0,0025/kg o 0,05-0,10/m² nelle 24 ore.

Mestranolo. In associazione per la terapia estroprogestinica anche sequenziale.

Metadone cloridrato. Nella terapia sostitutiva di disassuefazione e mantenimento nei casi di tossicodipendenza da oppiacei con metadone cloridrato sciroppo per os, è consentita la prescrizione di dosi fino a 120 mg pro die a seconda del grado di tolleranza e della capacità di metabolizzare il farmaco; comunque la dose di mantenimento va determinata su base individuale e verificata periodicamente dal medico stesso. Nel caso

di pazienti con dolore grave, la posologia consigliata è indicativa in quanto la dose necessaria può variare a seconda della intensità e del tipo di dolore nonché delle condizioni del paziente.

Metamizolo sodico. Somministrare in dosi suddivise.

Metilprednisolone acetato. Interazioni con antidiabetici orali, barbiturici, diuretici con azione kaliuretica, estrogeni, fenitoina, isoniazide, rifampicina.

Metixene cloridrato. In dosi suddivise.

Metoclopramide. Ridurre in insufficienza renale ed epatica.

Per controllare il vomito durante la chemioterapia: dose di carico 0,002-0,004/kg infusa e.v. in 15-30 min, dose di mantenimento 0,003-0,005/kg infusa e.v. in 8-12 ore, dose massima giornaliera e.v. 0,010/kg al giorno.

Metotrexato. La dose dipende dalle condizioni del paziente e dalla contemporanea somministrazione di altri medicinali. Altri cicli di terapia sono consigliati, secondo la malattia, come ad es. 0,015-0,03 per os., i.m. o e.v. nelle 24 ore per 5 giorni, a intervalli di 1-2 sett., per 3-5 cicli, oppure 0,00025-0,001/kg, fino a un massimo di 0,06 per i.m., ogni 48 ore e 4 dosi e poi ripetuto a intervalli di 7 giorni.

Le dosi riportate nella seconda riga si riferiscono al trattamento della psoriasi che sono più precisamente: per os: 0,01-0,025 (1 v. alla sett.), fino a un massimo di 0,05 per sett., o 0,0025 ogni 12 ore, per 3 dosi, o ogni 8 ore, per 4 dosi, 1 v. alla sett., fino a un massimo di 0,03 per sett., o 0,0025 (1 v. nelle 24 ore) per 5 giorni, seguito da un periodo di riposo di almeno 2 giorni, fino a un massimo di 0,00625 nelle 24 ore. Per i.m. o e.v. la dose massima è di 0,05 alla sett. Per i.m. o e.v. si somministra il sale sodico, ma le dosi si riferiscono a metotressato.

Metronidazolo. E' usato come antiprotozoario (Amebiasi, Tricomoniasi, ecc.) e antibatterico. Nell'Amebiasi si usano, per os dosi di 0,50-0,80 (3 v. nelle 24 ore) per 5-10 giorni; nella Tricomoniasi si usano dosi di: 0,20-0,25 (3 v. nelle 24 ore) per 7 giorni, o 1 (2 v. nelle 24 ore) per 2 giorni, o 2 come dose singola. Come antibatterico si usano dosi di 0,20-0,40, (3 v. nelle 24 ore) per 7 giorni.

Metronidazolo benzoato. Interazioni con alcool, anti-coagulanti orali, fenitoina. Prudenza nel caso di pazienti con insufficienza epatica; la posologia deve essere adattata secondo il caso.

Mitomicina. Ripetere dopo sei-otto settimane se i leucociti sono superiori a 3000/mm³ e se le piastrine sono superiori a 75000/mm³. Il farmaco può essere somministrato direttamente in vescica: 0,010-0,040 g fino a tre volte la settimana per un totale di 20 dosi (nel tumore vescicale superficiale).

Morfina solfato. La somministrazione è indicata per pazienti con dolore grave, responsivo alla morfina, non altrimenti trattabile. La posologia consigliata è indicativa in quanto la dose necessaria può variare a seconda della intensità e del tipo di dolore nonché delle condizioni del paziente (es. trattamento cronico, funzione degli emuntori fisiologici, ecc.). I dosaggi riportati possono essere superati nella terapia del dolore dei pazienti oncologici terminali nel rispetto delle linee guida O.M.S. (Cancer Pain Relief, 2^a Ed.).

Nadololo. Nell'ipertensione.

Si arriva alla dose massima nelle 24 ore in maniera graduale. Somministrare con prudenza in caso di insufficienza renale.

Naloxone cloridrato. La dose iniziale media nell'adulto di 0,0004 può essere ripetuta, in assenza di miglioramento, 1-2 v. ogni 2-3 min. Se dopo la terza somministrazione non si ottengono effetti positivi, la sindrome è di altra origine e quindi richiede un urgente intervento di tipo diverso. Anche la via i.m. o s.c. è possibile, ma con un effetto più lento (15-20 min). La dose iniziale nel neonato è di 0,00001/kg, da somministrare per e.v. solo nelle depressioni respiratorie causate da uso di sostanza oppioide da parte della madre tossicodipendente prima del parto.

Neomicina solfato. Per i.m. in caso di germi sensibili soltanto alla neomicina.

Nicergolina. Dosi da suddividere.

Nicotina. Dopo otto settimane di terapia, i dosaggi vanno ridotti (in modo graduale).

Nicotina resinato. La resina presenta un contenuto di nicotina pari al 20% del peso.

Nifedipina. La dose iniziale indicativa di 0,03 al giorno può essere aumentata fino ad un massimo di 0,12 assunti in dose unica al mattino. Durante il trattamento evitare di guidare autoveicoli e di usare macchinari.

Nifuroxazide. Da suddividere.

Nimodipina. In pazienti con insufficienza epatica la dose iniziale dovrebbe essere di 0,030 ogni 4 ore. La dose e.v. dovrebbe essere ridotta a 0,0005 o meno per ora, in pazienti che pesano meno di 70 kg, in quelli con pressione instabile o in quelli con insufficienza epatica. L'infusione dovrebbe durare per almeno 5 giorni e per non più di 14 giorni.

Niridazolo. La somministrazione va praticata per 5-10 giorni.

Nomegestrol acetato. Dose da assumere in caso di disordini mestruali.

Noradrenalina cloridrato. Calcolato come base (1 mg di base corrisponde a 2 mg di tartrato acido e a 1,2 mg di cloridrato). Interazioni con antidepressivi triciclici, antiipertensivi, glucosidi della digitale, levodopa.

Noradrenalina tartrato acido. E' preferibile per e.v. (fleboclisi). Fleboclisi: 0,000005-0,000025/min.

Noretinodrel. Come contraccettivo alla dose di 0,0025-0,005, in ass. con mestranolo (0,0001 o 0,000075) è somministrato per os dal 5° al 20° (21° o 28°) giorno di ciascun ciclo (nel caso del ciclo di 28 giorni, le ultime 7 dosi non contengono ormoni).

Noretisterone. Per os alla dose di 0,00035 ogni 24 ore è somministrato come contraccettivo "continuo". Alla dose di 0,0005-0,002 e in associazione con etinilestradiolo (0,000035) o mestranolo (0,00005-0,0001) dal 5° al 25° giorno del primo ciclo trattato e quindi, dopo un intervallo di 7 giorni, per il ciclo successivo.

Noretisterone acetato. a) Disturbi ginecologici; b) anti-fecondativo. Interazioni con amminopenicilline, barbiturici, carbamazepina, cotrimossazolo, cumarine, fenitoina, rifampicina, tetracicline.

Norgestrel. Antifecondativo. Interazioni con amminopenicilline, barbiturici, carbamazepina, cotrimossazolo, cumarine, fenitoina, rifampicina, tetracicline.

Ondansetron cloridrato diidrato. La dose massima giornaliera è 0,008 g in caso di insufficienza epatica.

Oxaliplatino. Solubilizzato in 250-500 ml di soluzione glucosata 5% e somministrato in 2-6 ore. Ripetere dopo 2 settimane se la tossicità lo permette.

Oxicodone cloridrato. Le dosi massime abituali sono di 0,01 per dose e di 0,04 al giorno, ma possono essere superate, in caso di dolore severo, secondo la prescrizione del medico. Senza una precisa indicazione del medico le dosi massime di 0,02 per dose e di 0,06 al giorno non possono essere superate. Tab. n. 7/I.

Oxifenbutazone. Dose di mantenimento per os: 0,10 (1-4 v. nelle 24 ore). La somministrazione va limitata negli anziani ed evitata nei vecchi.

Oxitocina. Interazioni con prostaglandine.

Parnaparina sodica. Secondo la gravità del caso. 0,4 ml 12 ore prima e dopo l'intervento per la prevenzione della trombosi venosa profonda in chirurgia generale e ortopedica.

Paroxetina cloridrato emidrato. Ridurre le dosi negli anziani e in caso di insufficienza renale.

Pentametilentetrazolo. Negli avvelenamenti, specialmente da barbiturici.

Perindopril sale di tert-butillamina. Ridurre la dose in caso di insufficienza renale. Somministrare preferibilmente la sera prima di andare a dormire.

Piperacillina sodica. Dosaggi i.m. utilizzati in caso di infezioni semplici. In caso di infezioni gravi e complicate si possono somministrare dosi maggiori.

Dosaggi e.v. utilizzati in caso di infezioni semplici. In caso di infezioni gravi e complicate si possono somministrare 0,2-0,3/kg e fino a 24 g al giorno.

Piperazina citrato. La somministrazione si fa in dose unica o in 2 giorni successivi.

Piracetam. In dosi suddivise. Si arriva a tali dosi con incrementi di 4-8 g al giorno ogni 3-4 giorni. In caso di insufficienza renale ridurre le dosi del 50% se clearance creatinina è di 40-60 ml/min e del 75% se clearance creatinina è di 20-40 ml/min.

Pirantel embonato. Dose singola. In ascariasi, 0,005/Kg; in infestazioni da anchilostomi, 0,010/kg per 3 giorni.

Pirazinamide. Interazioni con acido acetilsalicilico, allopurinolo, antidiabetici, probenecid. Prudenza nel caso di pazienti con insufficienza renale; la posologia deve essere adattata secondo il caso e/oppure il medicamento è tossico per i reni. Per somministrazioni al di sotto dei 12 anni controllare la letteratura.

Pirenzepina dicloridrato. Il trattamento ha la durata di 4 - 6 settimane, ma può essere prolungato fino a 3 mesi. La dose di mantenimento è di 0,05 al giorno.

Pivmecillina cloridrato. Dosaggio utilizzato nella salmonella.

Podofillina. Soluzione 15%. In caso si utilizzi la resina di *Indian podophyllum*. Dopo l'applicazione si lascia a contatto con le verruche per 1-6 ore e quindi si lava. Il trattamento va fatto una volta a settimana e ripetuto al massimo per 4 settimane. Non si deve applicare su superfici del corpo molto estese o su cute non intatta.

Soluzione 15%. In caso si utilizzi la resina di *American podophyllum*. Dose massima utilizzata in caso di condilomi acuminati. Dopo l'applicazione si lascia a contatto con le verruche per 1-6 ore e quindi si lava. Il trattamento va fatto una volta a settimana e ripetuto al massimo per 4 settimane. Non si deve applicare su superfici del corpo molto estese o su cute non intatta.

Pralidossima metilsolfato. Dose nelle 24 ore: 0,40 subito; 0,20 dopo 20 min; eventualmente di nuovo 0,20 dopo 6 e 12 ore.

Pravastatina sodio. Somministrare la sera. Le dosi vanno raggiunte gradatamente, incrementando ogni 4 settimane.

Prazepam. In pazienti debilitati, iniziare con 0,010-0,015 al giorno.

Prilocaina. La crema è costituita da una miscela eutetica con lignocaina base 2,5%.

Prilocaina cloridrato. Se è presente il vasocostrittore la dose massima è 0,6.

Procainamide cloridrato. Per e.v. lenta o per fleboclisi: goccia a goccia.

Proguanile cloridrato. La dose è 0,1 g quando è usato in associazione con atovaquone nella profilassi della malaria.

La dose è 0,4 g quando è usato in associazione con atovaquone nella terapia della malaria (da *Plasmodium falciparum*).

Propacetamolo cloridrato. Le dosi sono quelle del paracetamolo.

Propofol. Dose necessaria per ottenere una profonda analgesia.

Propranololo cloridrato. La dose giornaliera per os può essere gradualmente aumentata fino a 0,64 (eccezionalmente), se necessario. La somministrazione e.v. può essere ripetuta dopo 2 min e, se necessario, anche dopo 4 ore.

Protamina solfato. La dose dipende dalla quantità di eparina da neutralizzare. 0,001 neutralizzano almeno 80-100 U.I. di eparina. La somministrazione e.v. va fatta lentamente in almeno 10 min.

Pseudoefedrina cloridrato. In preparazioni a lento rilascio: 0,120 nelle 12 ore.

Reserpina. Intramuscolo. Uso psichiatrico.

Ribavirina. Dose massima nelle 24 ore. Se il peso del paziente è < 65 kg 0,8 g, se il peso del paziente è 65-85 kg 1 g, se il peso del paziente è > 85 kg 1,2 g. Somministrare per un periodo massimo di tre mesi; controllare i valori dell'emoglobina.

Rilmendina diidrogeno fosfato. Da suddividere.

Risperidone. In insufficienza epatica: 0,0005 due volte al giorno; massimo 0,002 in 24 ore.

Santonina. La dose abituale è di 0,01 per anno di età nei bambini.

Scopolamina butilbromuro (ioscina butilbromuro). Interazioni con antidepressivi triciclici, antistaminici, fenotiazine, levodopa, spasmolitici. Per somministrazioni al di sotto dei 12 anni controllare la letteratura.

Sodio alendronato. Somministrare 30 min prima dei pasti.

Sodio colistimetato. In pediatria la dose abituale è di 50.000 U./kg nelle 24 ore in 3 dosi. Per via intratecale si somministra in dose unica da 500.000 U. a 1.000.000 U. Incompatibile con carbenicillina, cefaloridina, cefazolina, eritromicina, meticillina. Si inattiva a pH superiore a 6,0.

1 mg corrisponde a 11.500 U.

Sodio molibdato diidrato. In associazione negli stati carenziali.

Sodio salicilato. Dose massima nelle 24 ore anche superiori, basata sul controllo della salicilemia.

Sodio tiosolfato. Come antidoto.

Solapsone. Dose nelle 24 i.m. o s.c. 2 v. alla sett.

Sotalolo. Per os. In ipertensione ed angina (0,5); in aritmie, ipertiroidismo (0,200); nell'infarto miocardico (0,280). Ridurre tutte le dosi in caso di insufficienza renale.

Stilbestrolo. Per talune indicazioni: 0,01-0,02 nelle 24 ore.

Streptochinasi. Dose di mantenimento 100.000 U./ora per un massimo di 5 giorni.

Stricnina nitrato. Negli avvelenamenti: e.v.

Sulfadoxina. In combinazione con pirimetamina, risp. pirimetamina + meflochina. a) Dose terapeutica contro la malaria; b) profilassi della malaria; c) dose terapeutica contro la toxoplasmosi. Interazioni con trimetoprima. Prudenza nel caso di pazienti con insufficienza renale; la posologia deve essere adattata secondo il caso e/oppure il medicamento è tossico per i reni. Per somministrazioni al di sotto dei 12 anni controllare la letteratura.

Testosterone. La dose i.m. è settimanale.

La dose 0,015 (trasdermico) corrisponde a circa 0,0036 nelle 24 h.

Tianeptina sodio. La dose dovrebbe essere ridotta a 0,025 g in pazienti anziani o con insufficienza renale.

Timololo maleato. Nella profilassi del reinfarto la dose abituale è di 0,01 due volte al giorno.

Tioconazolo. Somministrato in ovuli.

Tioridazina cloridrato. Dose di mantenimento: 0,01-0,2 (2-4 v. nelle 24 ore).

Tirotricina. Uso locale; somministrato in compresse da sciogliere in bocca.

Tiroxina. Le dosi devono essere diminuite nei soggetti anziani.

Tramadolo cloridrato. In caso di dolore post-operatorio (0,100 g subito seguiti da 0,050 g ogni 10-20 min fino a 0,250 g totali nella prima ora. Quindi si può continuare con 0,050-0,100 g ogni 4 ore fino a 0,600 g totali). Se clearance creatinina è < 30 ml/min la dose massima giornaliera è di 0,200 g; se clearance creatinina è < 10 ml/min il farmaco non dovrebbe essere utilizzato. L'intervallo tra le dosi deve essere almeno di 12 ore in caso di insufficienza epatica.

Trifluoperazina cloridrato. La dose può essere aumentata, se necessario e se tollerata.

Trimetadione. La dose può essere aumentata di altri 0,3 a intervalli di 1 sett. fino a una dose massima giornaliera di 2,4.

Trimetoprim. In associazione con sulfamidici.

Triparsamide. La dose è di circa 0,02-0,04/kg.

Triptofano. Nel trattamento della depressione.

Vinblastina solfato. Lo schema posologico è fissato caso per caso, previa determinazione della conta leucocitaria, che dovrebbe essere di 3000-4000 per ml. E' un potente citotossico. Nell'uso osservare rigide precauzioni. Se accidentalmente viene in contatto con l'occhio, lavarlo immediatamente e a lungo con acqua.

Vincristina solfato. Lo schema posologico è fissato caso per caso. Se accidentalmente viene in contatto con l'occhio, lavarlo immediatamente e a lungo con acqua.

Vinorelbina tartrato. Dose settimanale da iniettare in 20-30 min. Ridurre le dosi in caso di insufficienza epatica. Ridurre le dosi a 1/3 in caso di metastasi epatiche. Ridurre le dosi al 50% quando la bilirubina è 2,1-3,0 mg/100ml. Ridurre le dosi al 75% quando la bilirubina è > 3,0 mg/100ml.

Violetto di genziana. La dose è di 0,01 per anno di età nei bambini.

Vitamina A. Nella terapia della xeroftalmia.

Warfarin sodico. La dose di mantenimento è di 2-15 mg al giorno e dovrebbe essere calcolata in modo da ottenere un'attività protrombinica compresa tra il 20% e il 30%. La posologia va controllata con periodiche determinazioni del tempo di protrombina.

Zolpidem tartrato. In alcuni casi si arriva a 0,020. Negli anziani, nei pazienti debilitati o con insufficienza epatica si dovrebbe iniziare con 0,005 da somministrare la sera.

Zuclopentixolo decanoato. Dose settimanale.

Norme di buona preparazione dei medicinali in farmacia

INDICE

1. Generalità	1417	8. Controllo di qualità del preparato	1421
2. Gestione della qualità in farmacia	1417	9. Confezionamento ed etichettatura	1422
3. Personale	1418	10. Stabilità del preparato	1423
4. Laboratorio ed attrezzature	1418	11. Aspetti microbiologici dei preparati	1423
5. Documentazione in farmacia	1419	12. Contratti esterni	1425
6. Materie prime	1420	13. Glossario	1426
7. Operazioni di preparazione	1421		

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI MEDICINALI IN FARMACIA

1. GENERALITÀ

OBIETTIVO

Questo documento ha lo scopo di dare norme sulla buona preparazione dei medicinali in farmacia, per garantire la qualità come supporto imprescindibile all'efficacia e alla sicurezza del medicinale.

La preparazione dei medicinali su ordinazione del medico (preparato o formula magistrale) o in base alle indicazioni di una farmacopea dell'Unione Europea (preparato o formula officinale) è una componente importante dell'esercizio della professione di farmacista.

La qualità, l'efficacia e la sicurezza dei medicinali preparati dal farmacista tuttavia non dipendono soltanto dalla sua professionalità, dalla sua competenza scientifica e dalla continua interazione con il medico prescrittore e con il paziente. Esse dipendono anche dall'accurata organizzazione e dal costante controllo che il farmacista dedica al lavoro di preparazione del medicinale in tutte le fasi, anche successive alla sua vendita. L'organizzazione di un efficiente sistema integrato di gestione, che garantisca il controllo continuo e la documentabilità del lavoro svolto dalla farmacia, risponde all'esigenza fondamentale di salvaguardare la salute del paziente. In questo modo si fornisce inoltre un riferimento certo sia all'autorità sanitaria per valutare la qualità del processo di preparazione, sia al farmacista e al medico prescrittore per le rispettive responsabilità legali (con la possibilità di tutelare la loro professionalità) e per poter ripetere eventualmente la preparazione. Il sistema integrato di gestione è utilizzabile anche ai fini di un eventuale accreditamento nell'ambito del Sistema di Assicurazione della Qualità.

PRINCIPI GENERALI

La buona pratica di preparazione dei medicinali in farmacia è basata sui seguenti principi generali:

- adeguatezza delle risorse strutturali, strumentali, umane, organizzative e gestionali alla tipologia e al carico di lavoro svolto dalla farmacia,
- identificazione delle responsabilità,
- qualità delle materie prime,
- controllo costante e documentato sulle fasi di lavoro,

- manutenzione, calibrazione e aggiornamento della strumentazione,
- aggiornamento continuo e specifico del personale.

CAMPO DI APPLICAZIONE

Le norme di seguito descritte si applicano alle preparazioni, magistrali o officinali, eseguite in farmacia, sia essa aperta al pubblico che ospedaliera.

La farmacia che esegue preparati officinali non sterili su scala ridotta e preparati magistrali non sterili può discostarsi in parte da quanto descritto nei paragrafi che seguono, purché sia in grado di mantenere sotto controllo, dimostrandolo, l'intero processo.

2. GESTIONE DELLA QUALITÀ IN FARMACIA

Il sistema di controllo attraverso il quale viene gestita la qualità è generalmente chiamato Sistema di Assicurazione della Qualità (SAQ).

La complessità e la formalizzazione del sistema di assicurazione della qualità dipendono dalla tipologia e dal carico di lavoro della farmacia. Comunque la farmacia nella quale si eseguono preparazioni deve mantenere costantemente sotto adeguato controllo tutte le fasi del processo preparativo.

La gestione della qualità in farmacia si basa essenzialmente su tre strumenti: responsabilità, pianificazione e documentazione delle attività.

RESPONSABILITÀ

Il farmacista titolare o direttore è il responsabile generale. All'interno della gestione della qualità, ha le seguenti responsabilità:

- definire gli obiettivi e la politica della qualità della farmacia,
- assicurare le risorse necessarie per raggiungere e mantenere il livello di qualità stabilito,
- assegnare le responsabilità per le attività critiche,
- riesaminare periodicamente il sistema per assicurare che gli obiettivi siano definiti in modo adeguato e siano raggiunti in modo efficiente.

È altresì responsabilità del farmacista titolare o direttore fare in modo che le attività di preparazione e il normale servizio ai pazienti non si ostacolino a vicenda. Le attività da considerare critiche per il livello di qualità della farmacia sono discusse ai capitoli 3-12. Esse devono essere sempre effettuate sotto il controllo di un responsabile.

PIANIFICAZIONE

La pianificazione delle attività della farmacia in funzione degli obiettivi di qualità è essenziale ed è una attribuzione tipica della dirigenza della farmacia. Tuttavia la pianificazione deve essere integrata a tutti i livelli nelle attività della farmacia, dal magazzino all'archivio. L'efficacia della pianificazione è direttamente correlata all'efficienza con cui la farmacia è in grado di rispondere anche alle richieste che per loro natura non possono essere facilmente programmate.

Ciascuna farmacia deve stabilire proprie regole di comportamento per il funzionamento del laboratorio e convalidare, per quanto possibile, i processi di allestimento dei medicinali; la convalida di un processo è un programma documentato che dà un elevato livello di sicurezza sulla assunzione che quel processo produrrà costantemente un risultato conforme alle specifiche predeterminate ed agli attributi di qualità.

DOCUMENTAZIONE DELLE ATTIVITÀ

Per le attività descritte ai capitoli 3-12, la farmacia deve utilizzare procedure scritte, periodicamente aggiornate, che possono essere in forma cartacea e/o elettronica. Nel caso che siano solo in forma elettronica, le procedure devono essere comunque di facile accesso al personale addetto.

L'attività connessa con la preparazione dei medicinali sia direttamente sia indirettamente (per esempio: attribuzione delle mansioni, acquisti, immagazzinamento, archiviazione) deve essere documentata. La documentazione delle materie prime e delle preparazioni descritte al capitolo 5 deve essere in forma cartacea. L'archivio che contiene la documentazione deve essere efficacemente protetto. Il titolare o il direttore della farmacia nomina il responsabile dell'archivio.

3. PERSONALE

3.1. Il personale addetto alla preparazione dei medicinali nel laboratorio della farmacia deve avere la qualifica e la competenza necessarie. Il responsabile di ciascuna preparazione è un farmacista, il quale può fare eseguire, se le attività di preparazione sono significative nella farmacia, parte delle operazioni più semplici e ripetitive da personale tecnico o tirocinante, purché

autorizzato e sotto la sua diretta supervisione e la sua responsabilità; in ogni caso il personale operante deve essere adeguato alla quantità di lavoro svolto dalla farmacia.

3.2. Compiti e responsabilità devono essere attribuiti in modo chiaro e per iscritto. Devono essere stabiliti dei programmi dettagliati che prevedano delle procedure di istruzione ai compiti specifici assegnati al personale che opera nel laboratorio, in particolare per quello la cui attività può influire sulla qualità dei medicinali preparati.

Le operazioni già convalidate che richiedano l'uso di mezzi meccanici o semiautomatici possono essere eseguite anche dal personale tecnico o da tirocinanti, sotto la diretta responsabilità "in vigilando" del farmacista preparatore. In ogni caso il personale tecnico e i tirocinanti possono essere adibiti solo a compiti ben individuati e limitati e devono essere debitamente istruiti nelle loro mansioni in modo da comprenderne l'importanza ai fini della qualità; i loro compiti devono essere precisi ed inequivocabili, dati per iscritto ed aggiornati se necessario.

3.3. La qualità dei medicinali preparati in farmacia deriva dalla capacità e dalla specifica competenza del farmacista addetto, il quale, pertanto, va incoraggiato ad approfondire le proprie conoscenze seguendo corsi di aggiornamento e seminari specifici, disponendo di testi scientifici e pubblicazioni tecniche che gli consentano una continua informazione post-universitaria e ricorrendo, se necessario, alla consultazione e al confronto con colleghi già esperti.

4. LABORATORIO E ATTREZZATURE

4.1. Il laboratorio della farmacia deve essere adeguato ad assicurare le corrette operazioni di preparazione, confezionamento, etichettatura e controllo dei medicinali. La zona destinata alla preparazione deve essere separata o deve avere la possibilità di essere isolata mediante una funzionale compartimentazione che ne impedisca l'attraversamento; in ogni caso, durante l'attività di preparazione dei medicinali l'accesso alla zona di lavoro deve essere controllato e riservato al personale addetto a quel preciso compito.

Il laboratorio deve avere le pareti, il soffitto e il pavimento di materiale non poroso, preferibilmente liscio, resistente e non sgretolabile, privo di parti che perdono il rivestimento, capace di sopportare l'acqua calda e i detergenti; la pulizia deve avvenire regolarmente secondo procedure appropriate, che garantiscano la massima igiene e, se le circostanze lo richiedono, la

sanitizzazione dell'ambiente. Il laboratorio deve avere un piano di lavoro di materiale inerte, resistente, di facile pulizia e disinfezione, se necessario.

Le condizioni ambientali come la luce solare, l'illuminazione, la temperatura, l'umidità, la ventilazione, ecc. devono essere appropriate e tali da non esercitare effetti negativi, direttamente o indirettamente, sulla preparazione dei medicinali e sul corretto funzionamento delle apparecchiature; se necessario, le condizioni ambientali devono poter essere controllate per adattare alle varie esigenze.

Il laboratorio deve essere mantenuto sempre libero da qualunque infestazione mediante adeguate misure preventive.

Il laboratorio deve essere soggetto ad un adeguato programma di manutenzione periodica.

4.2. Le strutture presenti devono essere conformi alla vigente normativa sotto il profilo della sicurezza e devono rispondere ai requisiti richiesti dal sistema di assicurazione della qualità sotto il profilo del controllo, del funzionamento e della gestione delle emergenze derivanti da rotture o interruzioni di corrente. Il laboratorio dovrebbe poter disporre di gruppi di continuità elettrica allo scopo di assicurare in condizioni di emergenza il continuo funzionamento di apparecchi che hanno un impatto sulla qualità della preparazione; tali gruppi di continuità devono essere soggetti a manutenzione e controllo.

4.3. Le apparecchiature, gli utensili, il corredo di vetreria e la strumentazione, oltre quello minimo previsto dalla Tabella n. 6 della F.U., devono essere adeguati al numero ed alla natura delle preparazioni abitualmente eseguite.

Le apparecchiature non devono alterare le sostanze con cui vengono a contatto, né contaminarle con prodotti, come i lubrificanti, necessari al loro funzionamento; esse dovrebbero essere facilmente smontabili per consentirne una regolare pulizia. La vetreria e la strumentazione devono essere accuratamente pulite dopo ogni utilizzo e, se necessario, disinfettate e sterilizzate; la vetreria, gli utensili e le apparecchiature devono essere conservati adeguatamente in apposita zona.

Nella preparazione di medicinali sterili si deve usare solo vetreria sterile e parti sterili monouso oppure sterilizzate mediante trattamento convalidato periodicamente.

Tutte le apparecchiature, in particolare quelle che generano movimento o riscaldamento, devono essere utilizzate da personale all'uopo addestrato secondo procedure scritte.

Gli strumenti di misura devono essere periodicamente e regolarmente controllati e calibrati secondo dei programmi di uso e di manutenzione che prevedano anche semplici procedure di verifica dello strumento prima di ogni utilizzazione.

5. DOCUMENTAZIONE IN FARMACIA

Per realizzare il sistema di assicurazione della qualità è necessaria una documentazione, scritta o su sistema informatico, redatta in modo chiaro onde evitare ambiguità di interpretazione, datata e sottoscritta dal titolare o dal direttore o da un responsabile da lui appositamente nominato.

Devono esistere almeno le procedure principali previste dal sistema di assicurazione della qualità.

Tutta la documentazione deve essere conservata in un apposito archivio, efficacemente protetto e accessibile soltanto al personale autorizzato.

La documentazione relativa al processo di preparazione riguarda:

- i locali,
- le attrezzature,
- le materie prime,
- i preparati magistrali ed officinali.

Locali

Deve essere disponibile la documentazione relativa all'idoneità dei locali e alla manutenzione periodica (vedi paragrafo 4.1).

Attrezzature

I manuali di istruzioni per l'uso delle attrezzature devono essere disponibili con la relativa documentazione di manutenzione e di convalida.

Materie prime

La documentazione delle materie prime deve contenere almeno le seguenti informazioni:

- denominazione comune e/o nome chimico,
- quantità acquistata,
- data di arrivo,
- numero di lotto, nome del produttore e nome dell'eventuale distributore;
- eventuale numero di riferimento interno attribuito dal farmacista,
- certificato di analisi, datato e sottoscritto dal responsabile di qualità del produttore, che riporti la rispondenza ai requisiti di farmacopea o alle specifiche di qualità del produttore, la data limite di utilizzazione e/o di rititolazione, le condizioni di conservazione e di manipolazione,

- tipo e risultati degli eventuali controlli eseguiti dal farmacista,
- accettazione o rifiuto per l'utilizzazione nella preparazione, datata e firmata dal farmacista responsabile.

Preparati magistrali e officinali

La documentazione deve riportare:

- data di preparazione,
- composizione quali-quantitativa completa, forma farmaceutica e posologia, se nota,
- numero di riferimento interno o numero di lotto del fornitore delle sostanze utilizzate, con l'indicazione di quelle utilizzate per motivi tecnologici,
- riferimento alle procedure operative,
- data limite di utilizzazione,
- contenitore utilizzato, se necessario o previsto dalle procedure,
- copia dell'etichetta oppure le avvertenze da riportare in etichetta, se necessario,
- nome e firma del preparatore,
- risultati dei controlli di qualità effettuati,
- accettazione o rifiuto della preparazione, datata e firmata dal farmacista responsabile.

Per i preparati magistrali la documentazione deve anche riportare:

- numero progressivo,
- nome del medico prescrittore,
- nome del paziente, ove indicato.

Per i preparati officinali la documentazione deve anche riportare:

- nome del preparato,
- numero di lotto e sua consistenza numerica.

6. MATERIE PRIME

La scelta delle materie prime (principi attivi, eccipienti e solventi) da impiegare deve essere basata sulla "conoscenza della qualità". Con questo termine si intende la conoscenza:

- delle varie specifiche di qualità riportate nelle monografie della Farmacopea in vigore o in una delle Farmacopee degli Stati Membri della Unione Europea. In assenza di tale monografia si fa riferimento alle specifiche di qualità fornite dal produttore. Tutte le materie prime utilizzate devono comunque soddisfare alla monografia generale di Farmacopea "Sostanze per uso farmaceutico";
- del periodo entro il quale, come indicato dal produttore, il prodotto deve essere utilizzato.

6.1. La scelta della fonte di approvvigionamento delle materie prime deve essere effettuata considerando la qualificazione del fornitore che deve dare ogni garanzia per l'attestazione della qualità del prodotto venduto. Per essere qualificato un fornitore, per ogni materia prima, deve attestare:

- la provenienza e il nome del produttore (qualora il fornitore sia un rivenditore),
- il lotto di produzione,
- la data limite di utilizzazione e/o di rititolazione,
- l'indicazione dell'appartenenza allo stesso lotto di produzione di tutta la quantità di materia prima fornita,
- certificato di analisi, datato e sottoscritto dal responsabile di qualità del produttore, che riporti la rispondenza ai requisiti di farmacopea o alle specifiche di qualità del produttore, la data limite di utilizzazione e/o di rititolazione, le condizioni di conservazione e di manipolazione,
- le eventuali impurezze presenti e la loro concentrazione.

6.2. La conservazione delle materie prime deve essere fatta seguendo le indicazioni del produttore.

6.3. Prima dell'uso nella preparazione, le materie prime devono essere sottoposte a controlli allo scopo di accertarne la qualità e l'idoneità all'uso. Il controllo deve comprendere l'analisi quali-quantitativa sia del principio attivo (purezza del composto) che delle sostanze correlate (impurezze) la cui concentrazione deve essere contenuta nei limiti di accettabilità menzionati dalle specifiche di qualità. Può essere accettata la certificazione dettagliata della ditta produttrice/fornitrice, ma rimane comunque responsabilità del farmacista accertare l'identità, lo stato di conservazione, la data limite di utilizzazione per ogni materia prima impiegata.

6.4. Le droghe vegetali devono essere fornite alla Farmacia in confezione integra, recante in etichetta, anche le seguenti indicazioni:

- denominazione della droga e nome botanico della pianta secondo il nome scientifico della specie ufficialmente riconosciuto ed accettato dalle farmacopee o da documenti scientifici particolarmente qualificati, con eventuale indicazione, in parentesi, dei sinonimi più utilizzati,
- luogo di origine della droga,
- se ottenuta da pianta spontanea o coltivata,
- data di raccolta, data di confezionamento e data limite di utilizzazione,
- forma di presentazione della droga (se polvere con indicazione del numero),

- il titolo, che deve essere riferito al o ai principi attivi o costituenti caratteristici o ad altri caratteri specifici, riportati nelle singole monografie.

7. OPERAZIONI DI PREPARAZIONE

Tutte le procedure e le istruzioni di lavoro devono essere riportate in forma scritta, in dettaglio e devono essere corredate di un foglio di lavoro in cui vengano riportate, anche dall'operatore, le varie fasi della preparazione. Nelle istruzioni andranno anche indicati tutti i controlli da eseguire. Nel caso di preparazioni magistrali potranno essere sufficienti istruzioni più generiche a seconda della forma farmaceutica.

Procedure particolari dovranno essere previste in caso di utilizzazione di prodotti pericolosi e/o nocivi.

Le istruzioni dovranno essere periodicamente aggiornate.

Il farmacista responsabile della preparazione deve individuare gli eventuali punti critici delle operazioni di preparazione nei quali eseguire gli opportuni controlli. In ogni caso prima di iniziare la preparazione si devono eseguire le seguenti verifiche:

- formulazione e composizione (dose, compatibilità e stabilità chimico-fisica),
- materie prime (identità, conservazione, corrispondenza alla formulazione da eseguire, data limite di utilizzazione e/o di rititolazione),
- contenitori (qualità ed idoneità alle caratteristiche della preparazione),
- locali,
- apparecchiature (pulizia e corretto funzionamento),
- abbigliamento idoneo alla preparazione.

L'operatore dovrà inoltre eseguire preventivamente tutti i calcoli numerici relativi alle quantità dei vari prodotti che dovranno essere utilizzati, facendo particolare attenzione alle cifre significative da considerare in base all'ordine di grandezza delle quantità delle singole sostanze da utilizzare.

Le operazioni di preparazione non devono essere interrotte per assolvere altri compiti.

Di norma non devono essere eseguite contemporaneamente preparazioni diverse dallo stesso operatore. Qualora si operasse in contemporanea nello stesso ambiente, dovranno essere adottate tutte le precauzioni, compresi eventuali controlli sul prodotto finito, necessarie ad evitare possibili contaminazioni crociate. Dopo ogni preparazione tutte le apparecchiature e strumentazioni utilizzate dovranno essere trattate come descritto nel capitolo 4. *Laboratorio e attrezzature.*

Per ogni preparazione dovranno essere riportate, per iscritto, tutte le sostanze utilizzate, le operazioni eseguite e le eventuali osservazioni del preparatore come descritto nel capitolo 5. *Documentazione in farmacia.*

L'etichetta dovrà essere compilata secondo quanto riportato al capitolo 9. *Confezionamento ed etichettatura.*

8. CONTROLLO DI QUALITÀ DEL PREPARATO

La qualità e di conseguenza la sicurezza e l'efficacia del preparato dipendono dall'uso corretto dei componenti, dai calcoli eseguiti, dall'accuratezza e dalla precisione delle pesate e dei volumi, dal rispetto delle procedure e da appropriate condizioni operative.

Per i preparati magistrali i controlli di qualità sul prodotto finito possono essere limitati a semplici operazioni di verifica; per i preparati magistrali devono essere garantiti anche i limiti di accettabilità, di norma entro il 10 per cento del dichiarato.

Il preparatore assicura sotto la sua personale responsabilità e documenta la qualità e la quantità dei prodotti usati, la correttezza delle operazioni eseguite e l'esatta rispondenza alle procedure stabilite in accordo con codici di preparazione accreditati dalla Federazione degli Ordini dei farmacisti italiani.

Il farmacista responsabile deve comunque sempre effettuare, qualunque sia il tipo e la quantità del preparato allestito, alcuni controlli sul prodotto finito, eseguiti da personale con formazione ed esperienza lavorativa documentate.

Controlli da effettuare sul prodotto finito:

- verifica della correttezza delle procedure eseguite,
- controllo dell'aspetto,
- controllo del confezionamento e in particolare della sua tenuta,
- verifica della corretta compilazione dell'etichetta compresa l'indicazione delle modalità di conservazione e di vendita.

Inoltre, nelle forme farmaceutiche a dose unica si controllerà:

- l'uniformità di massa che deve essere accertata su un campione la cui dimensione dipende dalla consistenza numerica delle dosi forma. Nessuna dose forma del campione dovrà discostarsi dal ± 10 per cento del peso medio. Nel caso delle capsule, il controllo dell'uniformità di massa si effettuerà sulle capsule piene,

– la quantità o il numero di dosi forma da dispensare.

Nel caso di soluzioni si controllerà:

- l'aspetto e l'assenza di particelle visibili a occhio nudo,
- il pH, se necessario.

Nel caso di emulsioni o sospensioni si controllerà:

- l'aspetto del preparato,
- la ridispersibilità delle fasi.

Qualora si preparino forme farmaceutiche obbligatoriamente sterili o a carica microbica controllata si deve fare riferimento al capitolo *11. Aspetti microbiologici dei preparati*.

Per i preparati officinali eseguiti in scala ridotta la verifica sperimentale della conformità del preparato alle singole specifiche riportate nella Farmacopea, ovvero alle specifiche della singola monografia della preparazione farmaceutica, alle specifiche delle monografie generali attinenti e alle specifiche delle monografie di materie prime deve intendersi obbligatoria (vedere: Prescrizioni Generali della Farmacopea Ufficiale, Monografie di Preparazioni farmaceutiche specifiche).

Ciò non implica (vedere Prescrizioni Generali della Farmacopea Europea, Generalità) che sia obbligatorio effettuare l'insieme dei saggi di ciascuna monografia connesso con il preparato per valutare la conformità alla Farmacopea. Possono essere infatti usati, al fine di controllo, metodi alternativi a condizione che permettano, senza equivoci, di decidere che le norme di Farmacopea sarebbero state soddisfatte qualora fossero stati usati i metodi ufficiali.

Per queste preparazioni è opportuno conservare, per eventuali verifiche, un campione significativo, per ogni lotto preparato, almeno per un tempo pari al 20 per cento oltre il limite di validità della preparazione stessa; nel caso di forme farmaceutiche solide orali officinali la cui composizione quali-quantitativa dei principi attivi è uguale a quella di un medicinale autorizzato all'immissione in commercio è necessaria, se del caso, la verifica della dissoluzione *in vitro* paragonata ai dati ottenuti dalla dissoluzione *in vitro* del "prodotto innovativo".

Il controllo finale dovrà essere eseguito da una persona diversa da quella che ha effettuato la preparazione, secondo quanto previsto dal sistema di qualità adottato dal laboratorio di preparazione (vedere capitolo 2. *Gestione della qualità in farmacia*).

Il farmacista può eseguire i controlli in farmacia o farli eseguire da un laboratorio esterno pubblico o privato certificato.

I preparati officinali non in scala ridotta non rientrano nell'attività preparatoria del farmacista.

9. CONFEZIONAMENTO ED ETICHETTATURA

9.1. Il contenitore primario deve essere scelto tra quelli previsti dalla farmacopea in vigore, debitamente certificato dal fabbricante, idoneo alle caratteristiche della preparazione e in grado di garantire la qualità del preparato per tutto il suo periodo di validità. Il contenitore primario potrà essere sigillato qualora esigenze tecniche lo rendano consigliabile (per es. blister, bustine termo-saldate, ecc.); deve poter essere utilizzato con facilità dal paziente, consentire agevolmente e razionalmente il prelievo del medicinale, essere proporzionato al contenuto ed avere, se necessario, una chiusura a prova di bambino.

Il contenitore primario deve essere pulito prima dell'utilizzazione secondo un programma che preveda anche il risciacquo con acqua deionizzata, l'asciugatura e, se richiesto, la disinfezione e l'eventuale sterilizzazione.

9.2. L'etichettatura, fermo restando il disposto all'art. 37 del R.D. 30 settembre 1938, n. 1706, deve riportare, chiaramente ed in modo facilmente leggibile ed indelebile:

- il nome, indirizzo e numero di telefono della farmacia,
- il nome del medico prescrittore, nel caso di preparati magistrali e, se del caso, il nome del paziente, ove indicato,
- l'indicazione che consente di risalire alla documentazione,
- la data di preparazione e la data entro la quale il medicinale deve essere utilizzato,
- il titolo della monografia nel caso di preparati officinali,
- la quantità e/o il numero di dosi forma,
- la composizione quali-quantitativa dei principi attivi e qualitativa di tutti gli eccipienti impiegati; nel caso di preparazioni iniettabili la composizione quali-quantitativa completa. I componenti, incluse le droghe vegetali, devono essere indicati con la denominazione comune,
- altre indicazioni previste da leggi e regolamenti,
- dettagliate istruzioni e eventuali precauzioni per il corretto uso e conservazione, l'indicazione "Tenere fuori dalla portata dei bambini" e, se del caso, le modalità di eliminazione dei contenitori e del contenuto non utilizzato. In mancanza di spazio, le indicazioni potranno essere riportate su un'etichetta aggiuntiva applicata sul contenitore o, qualora ciò non fosse possibile, fornite su un foglio opportunamente allegato al contenitore stesso, anche ricorrendo all'uso di pittogrammi.

10. STABILITÀ DEL PREPARATO

Il farmacista nell'assegnazione della data limite per l'utilizzazione delle preparazioni da lui effettuate, oltre ai fattori connessi con la natura della preparazione e con la procedura della stessa, deve consultare ed applicare la pertinente documentazione e letteratura di carattere generale ed in particolare, se disponibile, quella concernente la singola e specifica preparazione in atto tenendo anche presente:

- la natura delle sostanze ed i processi che possono indurre degradazione (fotosensibilità, termolabilità ecc.),
- la natura del contenitore e le possibili interazioni contenitore-preparazione inclusi eventuali fenomeni di adsorbimento,
- le previste condizioni di conservazione,
- la compatibilità con gli eccipienti,
- la possibile degradazione degli eccipienti stessi,
- la durata della terapia.

In assenza di informazioni sulla stabilità devono essere osservati, per preparati non sterili, i seguenti limiti di utilizzazione della preparazione stessa conservata nelle condizioni indicate in etichetta:

Formulazioni solide, liquide non acquose o con un contenuto alcolico non inferiore al 25 per cento

Non oltre il 25 per cento del più breve periodo di validità dei componenti utilizzati; tale periodo non può comunque superare i 6 mesi.

Per tutte le altre formulazioni

Utilizzare entro 30 giorni dalla data di preparazione. Questo limite deve essere ridotto o può essere superato solo sulla base di specifiche conoscenze ed accorgimenti connessi con la contaminazione microbica del preparato e con le caratteristiche chimico-fisiche dei suoi componenti.

Anche per quanto riguarda la stabilità dei prodotti sterili il farmacista, oltre a quanto riportato nel capitolo *11. Aspetti microbiologici dei preparati*, deve fare riferimento, se disponibile, a documentazione e letteratura concernente la singola specifica preparazione. Nei casi di assenza di informazioni il preparato deve essere utilizzato entro 30 giorni dalla data di preparazione.

11. ASPETTI MICROBIOLOGICI DEI PREPARATI

11.1. PREPARATI OBBLIGATORIAMENTE STERILI

11.1.1. I preparati parenterali, oftalmici e altri dichiarati sterili, devono soddisfare ai requisiti di sterilità. I materiali e i metodi utilizzati devono garantire la sterilità ed evitare l'introduzione e la crescita dei microrganismi.

L'assicurazione della sterilità è garantita solamente dalla stretta osservanza delle norme di buona preparazione, da ambienti dedicati, da appropriate attrezzature, da personale qualificato, dalle procedure di pulizia e di disinfezione, dal ciclo di sterilizzazione utilizzato, dalle tecniche aseptiche impiegate, dai monitoraggi microbiologici ambientali.

I preparati magistrali ed officinali, devono soddisfare al saggio di sterilità (2.6.1) e al saggio delle endotossine batteriche (2.6.14), se prescritti in monografia.

Per i preparati somministrati entro i limiti temporali definiti dal sistema convalidato non è richiesto il saggio di sterilità; tuttavia i metodi di preparazione devono assicurare la sterilità. Qualora sia necessario utilizzare acqua per la preparazione di preparati sterili, questa deve essere acqua per preparazioni iniettabili, e pertanto soddisfare ai requisiti della monografia *Acqua per preparazioni iniettabili (0169)*.

11.1.2. Gli ambienti di preparazione devono essere separati dagli altri locali di preparazione. Gli ambienti dovranno essere classificati secondo il grado di rischio del processo impiegato in conformità all'Allegato 1, Fabbricazione di medicinali sterili, delle Norme di Buona Fabbricazione.

Le preparazioni più a rischio microbiologico devono essere effettuate in una zona di lavoro a flusso laminare unidirezionale di grado A. La zona immediatamente circostante deve essere di grado B. I preparati magistrali sterili descritti al punto *Preparato magistrale* del *Glossario* e riconducibili alle operazioni di miscelazione, diluizione e ripartizione possono essere allestiti in zone di lavoro a flusso laminare unidirezionale di grado A. Tale zona è inserita in ambiente dotato di zona filtro con controllo particellare e microbiologico dell'aria, procedure di accesso e lavoro rispondenti al sistema di convalida inerente la tipologia di preparazione in essa eseguita.

Le soluzioni da sterilizzare per filtrazione possono essere preparate in un locale di grado C e la filtrazione deve essere eseguita in una zona di grado A, le altre soluzioni non filtrabili devono essere preparate in una zona di grado A.

L'allestimento dei preparati da sterilizzare in autoclave deve essere effettuato in un locale di grado almeno D,

o di grado C per i preparati a rischio di contaminazione microbica. La ripartizione di questi preparati deve essere effettuata in ambienti di grado almeno C, o di grado A per i preparati a rischio di contaminazione microbica.

Le preparazioni pericolose (per es. preparati tossici, antitumorali, radiofarmaci) devono essere manipolate in apposite e dedicate cappe biologiche di sicurezza. L'ingresso ai locali deve avvenire tramite appositi locali filtro o spogliatoi, dello stesso grado del locale in cui si accede, dove il personale lascia i propri indumenti e dove indossa le dotazioni previste.

Le pareti, i soffitti, i pavimenti devono essere privi di fessurazioni, con angoli arrotondati ai punti di attacco, lavabili e disinfettabili. I locali devono essere dotati di un sistema di condizionamento, ventilazione e filtrazione dell'aria tramite filtri HEPA, con un numero di ricambi per ora adeguato alle dimensioni del locale e alle attività. Gli impianti di condizionamento, ventilazione e filtrazione dell'aria devono essere sottoposti a programmi periodici di manutenzione e devono prevedere adeguati sistemi di allarme. Tutti i locali devono essere in sovrappressione rispetto ai locali di classe inferiore, salvo il caso di manipolazione di sostanze citotossiche.

11.1.3. Poiché la qualifica e l'addestramento del personale sono un aspetto chiave per i preparati sterili, il personale addetto a queste preparazioni dovrà essere opportunamente addestrato sul corretto comportamento e sulle tecniche asettiche. Il personale presente nell'area dedicata alla preparazione sterile dovrà essere limitato a quello strettamente necessario.

Il tipo di vestizione deve essere adeguato alla classe dell'ambiente. Per il grado A sono richieste le seguenti dotazioni: un cappuccio che racchiuda completamente la capigliatura, la bocca, il naso ed eventualmente la barba, una tuta comprensiva di pantaloni, gambali e guanti. Le dotazioni devono essere sterili, non devono cedere fibre o particelle, devono essere sostituite dopo l'uso.

Per gli altri gradi le dotazioni comprendono un copricapo, se necessario un copri-barba, un indumento dedicato (giacca e pantalone o tuta), delle scarpe dedicate o delle soprascarpe. Le dotazioni devono essere pulite e non devono cedere fibre o particelle, devono essere sostituite dopo ogni uso.

Poiché la pulizia e la disinfezione degli ambienti sono importanti ai fini di eliminare e mantenere sotto controllo gli inquinanti microbici, gli ambienti e le attrezzature devono essere puliti e disinfettati con regolarità sia all'inizio sia alla fine del processo, secondo apposite procedure. I disinfettanti utilizzati devono essere a largo spettro d'azione, utilizzati opportunamente per

impedire fenomeni di resistenza, dedicati e sterilizzati per gli ambienti di grado A. Nelle procedure devono essere stabiliti i tempi massimi tra la fine del processo e la pulizia. Le attrezzature pulite devono essere conservate in modo da evitare fenomeni di ricontaminazione. Prima del processo successivo occorre verificare l'assenza delle sostanze utilizzate per la pulizia e la disinfezione. Eventuali diluizioni dei disinfettanti devono essere preparate immediatamente prima dell'uso. Per una valutazione dell'efficacia delle procedure di pulizia e di disinfezione, si raccomandano opportune e periodiche verifiche microbiologiche.

11.1.4. Devono essere previste apposite procedure di monitoraggio sia per le particelle che per i microrganismi, in modo da verificare lo stato di controllo degli ambienti. Il controllo delle particelle è raccomandato per la classificazione degli ambienti. I controlli microbiologici dell'aria ambiente, delle superfici, dei guanti degli operatori devono essere effettuati con regolarità e con una frequenza maggiore per le operazioni asettiche.

I controlli dovranno essere definiti da un apposito piano di campionamento commisurato agli ambienti e al loro utilizzo, che riporti i punti di prelievo, il numero dei saggi, le frequenze dei controlli, le metodiche utilizzate, le azioni previste al superamento dei valori limite. Per i valori limite l'attuale riferimento è costituito dall'Allegato 1. Fabbricazione di medicinali sterili, delle Norme di Buona Fabbricazione.

11.1.5. Il processo di sterilizzazione adottato deve essere adeguato per il tipo di prodotto. Le preparazioni sterilizzate al calore devono essere sterilizzate nei loro contenitori, mediante un'autoclave dedicata. Le condizioni di sterilizzazione devono essere, per quanto possibile, quelle di riferimento della Farmacopea (121 °C per 15 min). Opportuni studi di convalida devono essere eseguiti per la determinazione dei parametri di sterilizzazione (temperatura, pressione) all'interno della camera dell'autoclave e del carico. Per ogni ciclo di sterilizzazione deve essere disponibile la registrazione delle temperature, delle pressioni e dei tempi.

Le preparazioni che per proprie caratteristiche non possono essere sottoposte ad un trattamento di questo tipo, devono essere sterilizzate mediante membrane che trattengono i microrganismi e che hanno pori con un diametro nominale uguale o inferiore a 0,22 µ. Le preparazioni sono quindi ripartite asetticamente in un ambiente di grado A. Ai fini della sterilità è importante che i tempi tra la preparazione e la ripartizione siano contenuti.

Data la criticità delle operazioni di ripartizione asettica, è necessario convalidare le operazioni mediante appositi saggi che utilizzano idonei terreni di coltura, in sostituzione del prodotto. Questi saggi di convalida

devono simulare il più possibile la preparazione asettica ed includere tutte le fasi critiche. Il numero delle unità ripartite con un terreno di coltura deve essere della stessa dimensione della preparazione. I saggi devono essere effettuati con frequenza annuale e devono dimostrare, dopo incubazione di 14 giorni a condizioni idonee di temperatura, l'assenza di unità contaminate.

Per le preparazioni sterilizzate per filtrazione, si dovrà valutare che il sistema di filtrazione adottato (cartuccia, membrana) sia idoneo per la preparazione, in termini di portata, tempi di filtrazione, temperatura, pH. Si dovrà inoltre valutare l'assenza d'interferenze (assorbimento) dei costituenti del prodotto con il sistema di filtrazione.

Dovrà essere disponibile la documentazione relativa a: compatibilità dei materiali costituenti il sistema di filtrazione, sterilità, assenza di endotossine, sostanze estraibili, sostanze ossidabili, integrità del filtro correlata con il saggio di ritenzione batterica. L'integrità del sistema di filtrazione a cartuccia deve essere verificata, almeno al termine della filtrazione della preparazione, mediante saggi convalidati.

11.2. PREPARATI NON OBBLIGATORIAMENTE STERILI

11.2.1. I prodotti per i quali è richiesta una carica microbica controllata devono rispondere ai *Requisiti microbiologici delle preparazioni farmaceutiche (5.1.4)*.

La garanzia della qualità microbiologica di questi preparati dipende da una serie di fattori:

- le materie prime utilizzate,
- i materiali di confezionamento primari,
- il personale,
- il processo di preparazione,
- i fluidi di processo,
- le attrezzature,
- gli ambienti di preparazione e di conservazione.

Il preparatore deve valutare per i fattori sopra descritti il grado di rischio microbiologico, ai fini di mantenere sotto controllo le fonti di contaminazione microbica.

11.2.2. Per alcune preparazioni a maggior rischio microbiologico (per es. prodotti topici) occorrerà valutare la necessità di utilizzare dei filtri HEPA (per es. flussi laminari).

Le varie fasi del processo di preparazione devono essere attentamente valutate perché possono anch'esse contribuire alla contaminazione microbica della preparazione. In particolare alcuni parametri del processo di

preparazione (per es. tempo, temperatura, pH), il tipo di formulazione (per es. liquida, solida, semisolida, assenza di conservanti), possono favorire la crescita microbica. Pertanto se alcune fasi risultano a rischio, il processo dovrà essere rivisto in modo da ridurre o eliminare le fasi critiche.

12. CONTRATTI ESTERNI

In considerazione della tipologia e/o del carico di lavoro, la farmacia può decidere di avvalersi di strutture professionali esterne per svolgere, fuori dalla farmacia stessa sotto forma di contratto, i controlli di qualità richiesti per le preparazioni eseguite.

Il contrattista esterno è tenuto ad osservare le normative vigenti e deve essere certificato nell'ambito del Sistema di Assicurazione di Qualità.

Non viene considerato contrattista esterno il farmacista professionista o il tecnico che in qualità di consulente presta la sua opera all'interno della farmacia in attività connesse con la preparazione estemporanea di medicinali. Egli è tenuto a ottemperare alle procedure esistenti nella farmacia. Come nel caso dei contrattisti esterni, il responsabile generale della farmacia ha la responsabilità di scegliere il professionista o tecnico consulente e di controllare il suo operato.

Nel caso in cui la farmacia aperta al pubblico, pur dotata di adeguato laboratorio, non possieda le attrezzature necessarie per eseguire una specifica preparazione (compresse, capsule, fiale o altre preparazioni sterili ecc.) deve fornire indicazioni sulle farmacie più vicine attrezzate per eseguire la specifica preparazione richiesta.

I Servizi di Farmacia Ospedaliera invece, nel caso fossero anch'essi non dotati delle necessarie attrezzature per eseguire alcune specifiche preparazioni (prodotti sterili, miscele per uso parenterale di nutrizione artificiale e per chemioterapia antitumorali, altri tipi di miscele sterili, ecc.) devono attivare dei contratti con altri Servizi di Farmacia di Ospedali pubblici o privati accreditati in grado di eseguire correttamente le preparazioni richieste oppure, se vi sono le condizioni, ricorrere ai medicinali preparati industrialmente su richiesta del medico, come da vigente normativa. In questo caso, la responsabilità di scegliere il contrattista esterno, controllarlo, accettare e utilizzare il risultato del suo lavoro ricade sempre sul farmacista responsabile generale. Requisito generale delle strutture scelte come contrattisti esterni è avere la certificazione prevista dalla vigente normativa secondo l'attività svolta. I requisiti specifici dipendono dal settore di attività e sono oggetto del contratto tra farmacia committente e contrattista esterno.

13. GLOSSARIO

Attività critiche:

Le attività che hanno influenza sulla qualità della preparazione fornita al paziente.

Farmacopea in vigore:

La Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana (costituita dai testi della XII edizione nonché dai testi della 6^a edizione della Farmacopea Europea, recepita direttamente in lingua inglese e francese, con i suoi supplementi quadrimestrali) e tutte le farmacopee nazionali in vigore negli Stati Membri dell'Unione Europea.

Limiti di accettabilità:

L'intervallo numerico entro il quale dovrà situarsi il risultato di un eventuale dosaggio quantitativo del(i) principio(i) attivo(i) presente(i) nel preparato. I limiti di accettabilità sono fissati tenendo conto:

- della composizione del preparato,
- della procedura di preparazione,
- del metodo utilizzato per un eventuale controllo del preparato,
- del processo di degradazione del principio attivo nel tempo di utilizzazione del preparato.

Preparato magistrale o Formula magistrale:

Medicinale preparato in farmacia in base ad una prescrizione medica destinata ad un determinato paziente. Sono tecnicamente assimilabili ai preparati magistrali anche tutte le miscele, diluizioni, ripartizioni, ecc., eseguite per il singolo paziente su indicazione medica.

La prescrizione medica deve tenere conto di quanto previsto dall'articolo 5 del decreto legge 17 febbraio

1998, n. 23, convertito in legge con modificazioni dall'articolo 1, comma 1, legge 8 aprile 1998, n. 94 «Conversione in legge, con modificazioni, del decreto-legge 17 febbraio 1998, n. 23, recante disposizioni urgenti in materia di sperimentazioni cliniche in campo oncologico e altre misure in materia sanitaria».

Preparato officinale o Formula officinale:

Medicinale preparato in farmacia in base alle indicazioni di una farmacopea e destinato ad essere fornito direttamente ai pazienti che si servono in tale farmacia.

Scala ridotta:

Numero di "preparati" eseguibili dal farmacista.

La consistenza numerica, compatibilmente con la stabilità del preparato stesso, è quella ottenibile da una massa non più grande di 3000 grammi di formulato. Per i preparati soggetti a presentazione di ricetta medica la consistenza numerica deve essere documentata sulla base delle ricette mediche (copie o originali) presentate dai pazienti. Il farmacista può procedere ad una successiva preparazione di una formula officinale purché la "scorta" non superi comunque la consistenza numerica prevista dalla scala ridotta.

Responsabile:

Colui che ha il compito di eseguire e/o tenere sotto controllo una attività. Secondo la tipologia e il carico di lavoro della farmacia, possono esistere vari livelli di responsabilità, in modo da avere una piramide in cui i gradi inferiori (operativi) rendicontano al livello immediatamente superiore (gestionale) e questo all'apice, costituito sempre dal responsabile generale (farmacista titolare o direttore).

Norme di buona preparazione dei radiofarmaci per medicina nucleare

INDICE

1. Considerazioni generali	1429	9. Confezionamento ed etichettatura	1435
2. Gestione della qualità nelle preparazioni radiofarmaceutiche	1429	10. Stabilità del preparato	1435
3. Personale	1430	11. Aspetti microbiologici dei preparati radio- farmaceutici	1435
4. Documentazione	1430	12. Contratti esterni	1437
5. Laboratorio ed attrezzature	1431	13. Sistemi computerizzati	1437
6. Materie prime	1433	14. Glossario	1437
7. Operazioni di preparazione	1433	Allegato A. Preparazioni radiofarmaceutiche ottenute per mezzo di kit	1438
8. Controllo di qualità del preparato	1434		

NORME DI BUONA PREPARAZIONE DEI RADIOFARMACI PER MEDICINA NUCLEARE*

1. CONSIDERAZIONI GENERALI

Le metodologie proprie della Medicina Nucleare si basano sull'uso di medicinali contenenti atomi radioattivi (radionuclidi) indicati con il termine generale di radiofarmaci.

Nella maggior parte dei casi, i radiofarmaci devono essere preparati immediatamente prima dell'uso clinico.

I radiofarmaci sono medicinali e devono quindi rispondere a requisiti di qualità, sicurezza ed efficacia.

La qualità, requisito imprescindibile per la sicurezza e l'efficacia, deve essere garantita da un Sistema di Assicurazione della Qualità che permetta di ottenere costantemente un prodotto conforme alle specifiche predeterminate.

Inoltre, questi preparati pongono problemi di radioprotezione. L'obiettivo primario del sistema di assicurazione della qualità deve pertanto essere la protezione del paziente da ogni tipo di esposizione indebita al rischio radiologico, assicurando contemporaneamente la massima efficacia diagnostica e terapeutica possibile del radiofarmaco. Attenzione particolare dovrà essere data al calcolo dell'attività specifica, alla prevenzione della contaminazione crociata con altri radionuclidi, al controllo delle impurezze radionuclidiche e allo smaltimento dei rifiuti radioattivi.

Nel seguito si riporta un complesso di norme che indicano come tenere sotto controllo le condizioni di preparazione dei radiofarmaci in modo che ne siano garantite la qualità, la sicurezza e l'efficacia.

CAMPO DI APPLICAZIONE

Le Norme di Buona Preparazione dei Radiofarmaci per Medicina Nucleare si applicano a tutte le preparazioni di radiofarmaci che vengono effettuate con scopo diagnostico o terapeutico.

Le preparazioni di radiofarmaci possono appartenere alle seguenti categorie:

1. preparazioni ottenute per mezzo di kit, per uso diretto *in vivo*;
2. preparazioni estemporanee (incluse quelle in cui si effettua la radiomarcatura di materiale autologo del paziente).

La manipolazione di cellule o tessuti autologhi diversa dalla semplice separazione delle componenti cellulari e acellulari del sangue può configurare la preparazione di un prodotto per terapia cellulare somatica; in questo caso, per tutto ciò che non concerne strettamente la radiomarcatura devono essere applicate le normative relative ai prodotti per terapia cellulare somatica.

RADIOPROTEZIONE

Poiché l'emissione di radiazioni è la caratteristica fondamentale di ogni radiofarmaco, la preparazione e la manipolazione sono potenzialmente rischiose e richiedono l'uso di metodologie ed apparecchiature particolari e di locali appositamente costruiti e attrezzati che permettano la manipolazione dei radionuclidi in condizioni strettamente controllate e la protezione del personale dal rischio radiologico. La protezione sanitaria contro i rischi derivanti dalle radiazioni ionizzanti è attualmente regolamentata da leggi specifiche nazionali.

Tutte le operazioni che richiedono la manipolazione di radionuclidi allo scopo di preparare un radiofarmaco devono pertanto essere condotte in ottemperanza alle suddette leggi.

Le misure di radioprotezione necessarie al fine di minimizzare i rischi derivanti dall'impiego di sorgenti radioattive non sigillate dipendono dall'attività e dal tipo di radioisotopo utilizzato, nonché dalle modalità del suo impiego. Al fine di evitare la dispersione di particelle radioattive, è necessario che la pressione atmosferica presente nel laboratorio sia inferiore a quella delle aree circostanti.

Una discussione di questi requisiti è tuttavia al di fuori dello scopo di questo documento.

2. GESTIONE DELLA QUALITÀ NELLE PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Le strutture di Medicina Nucleare dove si preparano radiofarmaci devono dotarsi di un organigramma funzionale e di uno nominativo, nel quale siano definite chiaramente le figure responsabili. Il minimo organigramma comprende un responsabile generale al quale riferiscono un responsabile per l'assicurazione della

*Per la loro integrale applicazione le norme entreranno in vigore secondo quanto previsto da apposito decreto ministeriale.

qualità, un responsabile per le operazioni di preparazione e un responsabile per i controlli di qualità, tra loro indipendenti.

In base alla normativa vigente (Dl.vo 187/00) il responsabile generale è il Medico Nucleare.

Al fine di garantire che la preparazione dei radiofarmaci sia conforme alle presenti norme, il responsabile generale deve assicurare che la struttura abbia le necessarie risorse umane, finanziarie e strumentali e che sia definito, messo in opera e mantenuto un sistema di assicurazione della qualità, che garantisca che tutte le fasi del processo di allestimento dei radiofarmaci siano costantemente sotto controllo e realizzate seguendo i requisiti di qualità richiesti. Inoltre, egli deve assicurare che le operazioni di preparazione e controllo di qualità dei radiofarmaci vengano condotte da personale in possesso della necessaria preparazione sia teorica che pratica.

Le procedure in funzione nelle strutture di Medicina Nucleare devono chiaramente identificare chi ha la responsabilità delle seguenti azioni:

- approvazione delle operazioni di preparazione;
- approvazione dei risultati dei controlli di qualità sulla preparazione;
- approvazione (rilascio) della preparazione per l'uso clinico.

Il responsabile che autorizza il rilascio verifica che:

- la preparazione soddisfi alle specifiche dei controlli di qualità previsti per il rilascio;
- la preparazione sia stata eseguita in accordo con le presenti Norme di Buona Preparazione.

GESTIONE DELLE DEVIAZIONI E DEI CAMBIAMENTI

Qualunque deviazione dalle procedure deve essere registrata e se ne deve valutare l'impatto sulla qualità della preparazione, seguendo apposite procedure operative standard (SOP). Analogamente si opera per i cambiamenti.

PROCEDURE DI AUTO-ISPEZIONE

È necessario che siano periodicamente effettuate, e documentate, visite ispettive interne a cura del responsabile dell'assicurazione della qualità, per garantire che il sistema sia mantenuto sotto controllo.

GESTIONE DEI RECLAMI E DEI PREPARATI RESTITUITI

Devono essere messe in opera procedure per gestire eventuali reclami relativi alle preparazioni, ed eventuale restituzione di radiofarmaci che siano risultati difettosi. I radiofarmaci restituiti, se difettosi per

ragioni connesse con la qualità e la sicurezza, non possono essere riutilizzati per la somministrazione clinica e devono essere eliminati.

PREPARATI NON CONFORMI

I radiofarmaci non conformi ai requisiti di qualità, non possono essere utilizzati per la somministrazione clinica e devono essere eliminati.

Devono essere messe in opera procedure per rintracciare i preparati che siano risultati non conformi dopo la distribuzione ai pazienti.

3. PERSONALE

La preparazione ed il controllo di qualità dei radiofarmaci devono essere effettuati da personale specializzato ed in possesso di tutte le conoscenze necessarie per poter operare in condizioni controllate con sorgenti radioattive non sigillate.

È necessario che tutto il personale coinvolto o che collabora alla preparazione dei radiofarmaci riceva una formazione adeguata, con aggiornamento continuo, sui seguenti argomenti: assicurazione di qualità, elementi di radioprotezione, preparazione in asepsi, controllo di qualità dei radiofarmaci, tecniche analitiche, pulizia, trasporto e smaltimento dei rifiuti radioattivi, calibrazione degli strumenti, dosaggio della radioattività, preparazione delle dosi individuali, gestione della documentazione.

Inoltre, è necessario che tutto il personale (compreso quello coinvolto nella pulizia e nel mantenimento dei locali) impiegato in aree in cui vengono manipolati composti radioattivi abbia ricevuto una preparazione specifica su questa classe di sostanze, e un'istruzione dettagliata riguardante le procedure di protezione dalle radiazioni ionizzanti.

Tutto il personale deve correttamente applicare le tecniche necessarie a mantenere condizioni asettiche durante l'allestimento dei radiofarmaci.

4. DOCUMENTAZIONE

E' necessario disporre di un adeguato sistema di documentazione di tutte le preparazioni radiofarmaceutiche effettuate.

La documentazione (per es. SOP, metodi, registrazioni) deve permettere di seguire tutte le fasi di preparazione di un radiofarmaco a partire dalla prescrizione fino alla somministrazione al paziente della dose individuale.

I documenti possono essere cartacei o su supporto informatico, devono essere redatti in modo chiaro onde evitare ambiguità di interpretazione, devono essere

datati e approvati da un responsabile. Se il sistema informatico non è convalidato, devono esistere in forma cartacea idonei documenti di approvazione per l'utilizzo clinico delle preparazioni.

Tutta la documentazione deve essere conservata in un apposito archivio, efficacemente protetto e accessibile soltanto al personale autorizzato, per un tempo massimo approvato dal responsabile generale. Il fascicolo del lotto/preparazione ("batch record") e la documentazione dei controlli di qualità devono essere conservati per almeno un anno dopo la data limite di somministrazione al paziente nel caso di preparazioni consolidate, per almeno due anni dopo la fine della sperimentazione clinica nel caso di preparazioni in sviluppo.

Tutte le fasi di preparazione e controllo di qualità dei radiofarmaci, siano essi ottenuti per mezzo di kit registrati o attraverso preparazioni estemporanee, devono essere descritte in SOP e accuratamente registrate. Le SOP dovranno essere periodicamente aggiornate. I requisiti sullo stato dei locali in cui avviene la preparazione (pulizia, controllo delle condizioni ambientali) devono essere descritti in SOP e le condizioni di uso devono essere annotate nel fascicolo del lotto/preparazione. Tutte le deviazioni dalle procedure o i difetti del prodotto evidenziati durante o dopo la preparazione devono essere registrati e tracciabili.

Devono essere documentati lo stato di funzionamento (calibrazione, manutenzione) e le procedure di utilizzazione degli strumenti impiegati nella preparazione, nel controllo di qualità e nelle misure dosimetriche dei radiofarmaci.

Le istruzioni, fornite dal produttore del kit, riguardanti la preparazione ed il controllo di qualità di radiofarmaci ottenuti per mezzo di kit, devono essere esplicitamente riportate nelle procedure di preparazione (vedi Allegato A).

Nel caso di preparazioni estemporanee, si deve disporre di un'adeguata descrizione delle caratteristiche di ogni materiale utilizzato nella preparazione.

Deve essere disponibile documentazione relativa alle materie prime da usare nelle preparazioni, che comprenda almeno: nome chimico e commerciale, numero di lotto del produttore ed eventuale nome del distributore, certificato di qualità, data di scadenza, condizioni di conservazione e di manipolazione, approvazione per l'utilizzo firmata dal responsabile.

Per ogni preparazione deve essere allestito un relativo fascicolo ("batch record") che deve contenere almeno le seguenti informazioni:

- numero del lotto/preparazione;
- indicazione del numero di dosi totali preparate;

- se necessario, identificazione del paziente a cui è destinata la preparazione;
- data di preparazione, compresa ora/minuti/secondi se necessario;
- nome del medico richiedente la preparazione;
- composizione completa, forma farmaceutica e posologia;
- numero di lotto delle materie prime e altre sostanze e materiali utilizzati (compreso il contenitore);
- riferimento alle SOP seguite;
- documentazione dello stato dei locali e degli apparecchi usati;
- data limite di utilizzazione della preparazione;
- copia dell'etichetta apposta sul contenitore;
- nome e firma del preparatore;
- approvazione (o rifiuto) della preparazione, mediante data e firma, da parte del responsabile della preparazione;
- certificato di analisi con i risultati dei controlli di qualità effettuati, datato e firmato dal responsabile dei controlli di qualità;
- conclusioni sull'utilizzo (accettazione o rifiuto), mediante data e firma, da parte del responsabile del rilascio.

5. LABORATORIO ED ATTREZZATURE

I materiali radioattivi devono essere conservati, manipolati, confezionati e controllati in appositi locali dedicati che costituiscono il laboratorio di manipolazione dei radionuclidi (nel seguito denominato semplicemente laboratorio).

Solamente le attrezzature, i materiali e i prodotti necessari al corretto funzionamento del laboratorio devono essere collocati all'interno di esso.

Le attrezzature presenti nel laboratorio devono essere dedicate alla preparazione dei radiofarmaci.

Laboratorio.

Il laboratorio deve essere progettato in modo adeguato ad assicurare che le operazioni di preparazione, confezionamento, etichettatura e controllo dei radiofarmaci avvengano secondo un flusso logico che minimizzi le possibilità di contaminazione crociata.

L'accesso deve essere permesso solo a personale autorizzato dal responsabile.

Il laboratorio è suddiviso in due parti: quella destinata alle operazioni di preparazione e quella dove avvengono tutte le altre attività.

La zona destinata alla preparazione dei radiofarmaci deve essere separata dal resto dei locali. L'ingresso al

laboratorio deve avvenire tramite appositi locali filtro dove il personale lascia i propri indumenti e dove indossa le dotazioni previste.

Le finiture di pavimento, pareti e soffitti anche dei locali diversi da quelli dedicati alla preparazione devono essere adeguate a quanto richiesto dalle norme di radioprotezione. Le condizioni ambientali all'interno del laboratorio devono essere controllate e tali da non provocare effetti negativi sulla preparazione dei radiofarmaci e sul corretto funzionamento delle apparecchiature. La pulizia deve avvenire regolarmente secondo procedure appropriate, che garantiscano la massima igiene e, se le circostanze lo richiedono, la sanitizzazione dell'ambiente. Il laboratorio deve essere mantenuto sempre libero da qualunque infestazione mediante adeguate misure preventive sia strutturali sia operative.

Il laboratorio deve essere sottoposto a manutenzioni periodiche stabilite seguendo un adeguato programma di controlli.

È necessario evitare l'immagazzinamento e la manipolazione di materiali biologici nel laboratorio, fatta eccezione per la marcatura di componenti cellulari autologhe provenienti dal sangue del paziente.

Zona destinata alle attività di preparazione estemporanea dei radiofarmaci.

La zona destinata alla preparazione estemporanea dei radiofarmaci deve essere contenuta nel laboratorio ma separata dal resto dei locali mediante apposite stanze filtro. I locali di questa zona dovranno essere conformi alle Norme di Buona Preparazione dei Medicinali in Farmacia, (capitolo *11. Aspetti microbiologici dei preparati*), secondo il grado di rischio del processo impiegato (vedi capitolo *11. delle presenti norme*) e dotati di un sistema indipendente di condizionamento, ventilazione e filtrazione dell'aria tramite filtri HEPA, con un numero di ricambi per ora adeguato alle dimensioni del locale e alle attività. Poiché l'aria estratta non deve ricircolare, il sistema deve impedire che attraverso i dotti di estrazione inattivi l'aria ritorni dall'esterno dentro la stanza classificata.

La zona deve essere dedicata alla preparazione e vi si possono svolgere solo le attività ad essa connesse (per esempio monitoraggio delle condizioni ambientali). La presenza di contenitori e materiali che possono cedere fibre deve essere ridotta al minimo.

L'accesso alla zona deve essere riservato al personale autorizzato.

Eventuali dispositivi di decontaminazione (per es. lavandini) dovranno essere alloggiati nelle stanze filtro.

Attrezzature.

Le attrezzature presenti nel laboratorio devono essere conformi alla vigente normativa sotto il profilo della sicurezza e della radioprotezione.

Le apparecchiature, gli utensili e la strumentazione devono essere adeguati al numero ed alla natura delle preparazioni abitualmente eseguite.

Le apparecchiature non devono alterare le sostanze con cui vengono a contatto, né contaminarle con prodotti, come i lubrificanti o i conservanti, necessari al loro funzionamento; dovrebbero essere facilmente smontabili per consentirne una frequente pulizia. Utensili e strumentazione devono essere accuratamente puliti dopo ogni utilizzo e, se necessario, disinfettati e sterilizzati.

Materiali e parti, che durante la preparazione del radiofarmaco vengono a contatto con il prodotto o con suoi componenti o intermedi, devono essere sterili e monouso. In casi specifici può essere ammesso l'uso di materiali e parti da riutilizzare dopo essere stati puliti, decontaminati e sterilizzati mediante trattamenti convalidati.

Tutte le apparecchiature devono essere utilizzate da personale appositamente addestrato e seguendo procedure scritte.

Il laboratorio deve disporre di gruppi di continuità elettrica allo scopo di assicurare in condizioni di emergenza il continuo funzionamento di apparecchi che hanno un impatto sulla qualità della preparazione. Tali gruppi di continuità devono essere soggetti a manutenzione e controllo.

Gli strumenti di processo e misura (incluse le loro parti informatizzate) considerati critici per la qualità del radiofarmaco (per esempio calibratori di attività, gascromatografi o HPLC) devono essere soggetti ad un programma di qualifica (installazione, operatività, funzionalità e se del caso anche progettazione) prima di essere usati; una volta in uso, devono essere periodicamente controllati e calibrati secondo programmi di uso e manutenzione. Il corretto funzionamento della strumentazione deve essere confermato in seguito ad interventi di riparazione.

La strumentazione necessaria per determinare l'attività e la purezza radiochimica del radiofarmaco deve essere adeguatamente schermata dall'influenza della radiazione ambientale e opportunamente tarata. Il fondo di radiazione deve essere controllato ogni volta prima dell'uso di ogni strumento, al fine di evidenziarne un eventuale aumento imprevisto.

L'esposizione degli operatori alle sorgenti radioattive non sigillate, deve essere ridotta al minimo attraverso l'uso di appositi contenitori schermati e di schermi protettivi la cui composizione dipende dal tipo di decadi-

mento radioattivo dei radionuclidi utilizzati nelle preparazioni radiofarmaceutiche. Le superfici interne ed esterne dei contenitori e degli schermi protettivi devono essere di facile pulizia e decontaminazione.

6. MATERIE PRIME

La scelta delle materie prime (principi attivi, eccipienti e solventi) da impiegare deve essere basata sulla "ricerca della qualità". Con questo termine si intende la conoscenza delle varie specifiche di qualità riportate nelle monografie di farmacopea. In assenza di tali monografie si fa riferimento alle specifiche di qualità fornite dal produttore.

In generale le materie prime devono essere conformi a quanto descritto nelle Norme di Buona Preparazione dei Medicinali in Farmacia (capitolo 6. *Materie prime*). Le materie prime utilizzate devono soddisfare ai requisiti specifici descritti nella monografia generale "Preparazioni radiofarmaceutiche" e in altre monografie generali presenti in farmacopea, quando applicabili.

La contaminazione microbica delle materie prime deve essere tale da non compromettere la qualità del prodotto finale. Nelle preparazioni in asepsi devono essere impiegate soltanto materie prime sterili.

7. OPERAZIONI DI PREPARAZIONE

Preparazioni ottenute per mezzo di kit.

Queste preparazioni devono essere svolte secondo quanto descritto nell'allegato A.

Preparazioni estemporanee.

La preparazione deve essere condotta seguendo procedure approvate dal responsabile delle operazioni di preparazione.

Il processo di preparazione deve essere convalidato e la convalida confermata periodicamente.

Nel caso di sviluppo del processo per sperimentazione clinica è accettabile una convalida parziale, che deve comprendere la verifica dell'asepsi nel caso di preparazioni iniettabili.

La preparazione di solito avviene con il sistema dei lotti, o in alternativa numerando progressivamente le singole preparazioni. Qualunque sistema si adotti, è comunque indispensabile che ciascuna preparazione sia identificata in modo univoco e sia tracciabile dall'inizio (richiesta di preparazione) alla fine (somministrazione al paziente).

Tutte le procedure e le istruzioni di lavoro (compresi i campionamenti e i controlli da eseguire) devono essere riportate in forma scritta, in dettaglio e devono essere

corredate di un foglio di lavoro in cui vengano annotate, anche da parte dell'operatore, le varie fasi della preparazione. Le procedure di preparazione devono essere redatte conformemente a quanto riportato nella monografia generale "Preparazioni radiofarmaceutiche".

Procedure particolari dovranno essere previste in caso di utilizzazione di prodotti pericolosi e/o nocivi.

Il responsabile delle operazioni di preparazione deve essere qualificato e opportunamente formato e deve garantire che queste attività siano eseguite, secondo le procedure in vigore, da personale qualificato ed istruito. Il responsabile deve individuare eventuali punti critici nel processo di preparazione nei quali eseguire opportuni controlli (vedi capitolo 8. delle presenti norme).

Prima di iniziare ogni preparazione si devono eseguire, e documentare, le seguenti verifiche:

- formulazione e composizione (dose, compatibilità e stabilità chimico-fisica);
- materie prime (identità, conservazione, corrispondenza alla formulazione da eseguire, data limite di utilizzazione e/o di rititolazione);
- contenitori (qualità ed idoneità alle caratteristiche della preparazione);
- locali (pulizia e stato della classificazione, idoneo abbigliamento);
- apparecchiature (pulizia e corretto funzionamento).

Non si possono eseguire contemporaneamente preparazioni diverse in una stessa area di lavoro.

In tutte le fasi del processo di lavorazione, comprese quelle precedenti la sterilizzazione, devono essere prese precauzioni per ridurre al minimo il rischio di contaminazione.

Il periodo che intercorre tra l'inizio della preparazione di una soluzione e la sua sterilizzazione (indipendentemente dal metodo usato) deve essere il più breve possibile. Occorre stabilire un intervallo massimo ammissibile per ogni prodotto tenendo conto della sua composizione e del metodo di conservazione prescritto.

Negli ambienti controllati, soprattutto nel corso di operazioni asettiche, le attività devono essere ridotte al minimo ed i movimenti del personale devono essere controllati e metodici per evitare un'eccessiva dispersione di particelle provocata da un'attività troppo intensa. La temperatura e il tasso di umidità dell'ambiente devono essere confortevoli e adeguati all'abbigliamento del personale.

I componenti, i contenitori, le attrezzature e qualsiasi altro oggetto necessario nell'area classificata dove si svolgono procedure asettiche devono essere sterilizzati e introdotti nell'ambiente con una procedura che per-

metta di evitare contaminazioni. I gas non combustibili devono essere introdotti nella preparazione mediante passaggio su filtri sterilizzanti.

Prima e alla fine di ciascuna preparazione, l'area di lavoro deve essere adeguatamente pulita. Nell'area di lavoro deve essere sempre indicato se è in corso una preparazione e quale sia, e quale sia stata l'ultima effettuata.

Dopo la fase di pulizia finale i componenti, i contenitori e le attrezzature devono essere manipolati in modo da evitare ricontaminazioni.

L'intervallo tra le fasi di lavaggio/asciugatura e la sterilizzazione di componenti, contenitori ed attrezzature e tra la fase di sterilizzazione e di utilizzo degli stessi deve essere minimo e limitato in funzione delle condizioni di conservazione.

Il preparatore registra nel fascicolo del lotto tutte le operazioni eseguite, i materiali usati (qualità e quantità), i campionamenti e i controlli richiesti, nonché tutte le deviazioni dalle procedure o dai limiti prefissati.

Il responsabile delle preparazioni alla fine verifica e approva quanto effettuato.

8. CONTROLLO DI QUALITÀ DEL PREPARATO

Considerazioni generali.

Ai fini del rilascio di ciascun lotto/preparazione per l'utilizzo clinico, devono essere eseguiti controlli di qualità sul prodotto finale del lotto/preparazione.

Per ciascun parametro sottoposto al controllo, devono essere individuate adeguate specifiche (limiti di accettazione). Il programma dei controlli e le relative specifiche devono essere descritti in un documento e approvati dal responsabile. I controlli devono essere eseguiti da personale diverso da quello che effettua la preparazione e in aree diverse da quelle dove questa avviene (vedi capitolo 5. delle presenti norme).

I risultati dei controlli devono essere raccolti in un certificato di analisi, firmato e datato dal responsabile prima del rilascio del lotto/preparazione.

Controlli di qualità (per esempio, l'efficienza della marcatura) si effettuano anche in determinati punti del processo di preparazione (controlli di processo); il parametro da verificare e il punto del processo dove avviene il campionamento devono essere scelti in base alla criticità per la qualità finale del prodotto e approvati dal responsabile.

Programma dei controlli di qualità ai fini del rilascio del lotto/preparazione.

Nel caso di radiofarmaci ottenuti per mezzo di kit, devono essere eseguiti i controlli di qualità descritti dal produttore del kit (allegato A).

Nel caso di preparazione estemporanea, il programma dei controlli e i limiti di accettazione devono essere conformi a quanto stabilito nella specifica monografia di farmacopea; in assenza di monografia specifica, il programma deve essere conforme a quanto descritto nella monografia generale "Preparazioni radiofarmaceutiche". Possono essere inclusi nel programma saggi aggiuntivi, per esempio giustificati in base al processo di preparazione.

Saggi per pH, solventi residui e impurezze possono essere necessari in base al processo chimico di preparazione e alla tossicità delle impurezze potenzialmente presenti.

Nei casi in cui il tempo di dimezzamento del radionuclide imponga una data limite di utilizzo della preparazione incompatibile con il completamento delle analisi, alcuni saggi possono non essere inseriti nel programma dei controlli di qualità ai fini del rilascio, purché tale programma sia stato approvato dall'Autorità competente. In questo caso, i saggi non completabili prima del rilascio devono essere eseguiti sul prodotto finale come controlli di processo.

Le preparazioni radiofarmaceutiche iniettabili devono soddisfare ai saggi di sterilità e contenuto di endotossine. Se il tempo di dimezzamento del radionuclide o la quantità di preparato lo rendono necessario, il lotto/preparazione può essere rilasciato per l'uso clinico prima della fine del saggio.

Campionamento.

Il campionamento deve essere fatto seguendo procedure scritte e approvate, in contenitori con etichetta che indichi almeno contenuto, numero e data del lotto/preparazione.

Quando possibile dovrebbero essere conservati controcampioni per ciascun lotto/preparazione, per lo stesso periodo di tempo della documentazione (vedi capitolo 4. delle presenti norme).

Metodi di analisi, reattivi e standard di riferimento.

In assenza di specifica monografia di farmacopea, i metodi di analisi devono essere descritti in apposite procedure, devono essere convalidati e approvati dal responsabile del controllo qualità; nel caso di preparazioni in sviluppo per sperimentazione clinica è accettabile una convalida parziale, che comprenda almeno il limite di quantificazione per un metodo quantitativo, e la specificità per un metodo qualitativo.

I reattivi e i materiali usati devono essere di qualità adeguata, preparati seguendo procedure scritte e approvate; la data limite di utilizzo deve essere indicata in etichetta.

La catena di calibrazione degli standard di riferimento deve essere tracciabile e riferibile a standard certificati. Gli standard di lavoro usati devono essere scientificamente giustificati.

Tutti i risultati analitici ottenuti devono essere documentati, conservando i dati grezzi, e approvati da un responsabile.

Nel caso di risultati fuori specifica, l'analista e il responsabile devono effettuare, e documentare, una adeguata investigazione seguendo una apposita SOP, prima di giungere alla decisione finale se accettare o no il risultato fuori specifica.

9. CONFEZIONAMENTO ED ETICHETTATURA

Il contenitore primario deve essere scelto tra quelli previsti dalla farmacopea, idoneo alle caratteristiche della preparazione e in grado di garantire la qualità del preparato per tutto il suo periodo di validità.

Il contenitore primario deve essere pulito prima dell'utilizzazione secondo un programma che preveda anche il risciacquo con acqua deionizzata, l'asciugatura e, se richiesto, la disinfezione e l'eventuale sterilizzazione.

Fermo restando quanto disposto all'art. 37 del R.D. 30 settembre 1938, n. 1706, l'etichetta deve riportare, scritto in modo chiaro, facilmente leggibile ed indelebile:

- nome, data e numero di lotto della preparazione;
- nome del paziente, ove indicato;
- nome e indirizzo della struttura sanitaria;
- composizione quali-quantitativa completa;
- quantità;
- numero di dosi, se necessario;
- condizioni di conservazione;
- data limite entro la quale il medicinale deve essere utilizzato;
- altre indicazioni previste da leggi e regolamenti.

10. STABILITÀ DEL PREPARATO

Ad ogni preparazione devono essere assegnate adeguate condizioni di conservazione e una data limite di utilizzazione.

La stabilità chimica dei radiofarmaci ottenuti usando kit è indicata dal produttore nella scheda allegata al kit, che specifica l'intervallo temporale, a partire dal

momento della preparazione, entro il quale il radiofarmaco deve essere somministrato e descrive le precauzioni che occorre mettere in atto al fine di assicurare che siano soddisfatte tutte le specifiche di qualità.

La stabilità chimica dei radiofarmaci ottenuti attraverso preparazioni estemporanee deve essere valutata sulla base di dati scientifici. In assenza di dati disponibili, deve essere eseguito uno studio di stabilità sul prodotto finale, nel contenitore e con il sistema di chiusura effettivamente usato nella conservazione. Lo studio deve determinare la variazione della purezza radiochimica del preparato radiomarcato nel tempo in dipendenza di parametri quali la temperatura, il pH della soluzione, l'attività impiegata, la concentrazione dei reagenti, le caratteristiche nucleari del radionuclide.

Il radiofarmaco deve risultare conforme alle specifiche alla data limite di utilizzazione.

Il responsabile, nell'assegnazione della data limite per l'utilizzazione delle preparazioni, oltre ai fattori connessi con la natura della preparazione e con la procedura della stessa, deve consultare ed applicare la pertinente documentazione e la letteratura di carattere generale e, se disponibile, quella concernente la singola preparazione in atto tenendo anche presente:

- la natura delle sostanze ed i processi che possono indurre degradazione (fotosensibilità, termolabilità ecc.);
- la natura del contenitore e le possibili interazioni contenitore-preparazione, inclusi eventuali fenomeni di adsorbimento;
- le previste condizioni di conservazione;
- la compatibilità con gli eccipienti;
- la possibile degradazione degli eccipienti stessi.

Qualora vi siano cambiamenti delle procedure di preparazione, o delle specifiche dei componenti, che abbiano un potenziale effetto sulla stabilità del prodotto finale, lo studio di stabilità deve essere ripetuto.

11. ASPETTI MICROBIOLOGICI DEI PREPARATI RADIOFARMACEUTICI

Di ciascuna categoria di preparazione prevista, il responsabile delle operazioni di preparazione stabilisce il grado di rischio microbiologico, in base alla via di somministrazione e alla possibilità di sterilizzazione terminale del preparato.

Tutte le preparazioni estemporanee iniettabili devono essere sterili.

L'assicurazione della sterilità è garantita solamente dalla stretta osservanza delle Norme di Buona Preparazione dei Medicinali in Farmacia, da ambienti dedicati e controllati in modo adeguato, da appropriate attrez-

zature, da personale qualificato, dalle procedure di pulizia e disinfezione, dal ciclo di sterilizzazione utilizzato, dalle tecniche aseptiche impiegate, dai monitoraggi microbiologici ambientali. Per una descrizione esauriente, si veda *Argomenti generali sulla sterilità (5.1.)*, *Metodi di preparazione dei prodotti sterili (5.1.1.)*. Le preparazioni che hanno più alto rischio microbiologico (ripartizioni aseptiche, manipolazioni di prodotti sterili, preparazioni che non possono essere sottoposte a sterilizzazione terminale) devono avvenire con procedure aseptiche all'interno di apposita cappa a flusso laminare di classe A posta in un locale di classe B, o di un isolatore che garantisca un ambiente sterile, posto in una zona di grado D.

Le preparazioni a minor rischio (quelle per le quali è possibile la sterilizzazione terminale) possono essere effettuate in cappe a flusso laminare di classe A in un locale di grado D.

Le caratteristiche dei gradienti di pressione degli ambienti devono essere tali da proteggere la preparazione dalla contaminazione e allo stesso tempo essere conformi ai requisiti di radioprotezione.

Tutte le manipolazioni successive alla sterilizzazione terminale che espongono il radiofarmaco già sterilizzato all'ambiente devono essere considerate ad alto rischio microbiologico.

Sia le cappe sia gli isolatori devono essere qualificati e controllati come descritto al capitolo 5. delle presenti norme.

La qualifica e l'addestramento del personale sono aspetti chiave. L'obiettivo è di prevenire contaminazioni provenienti dagli ambienti e dal personale. Il personale addetto alle preparazioni dovrà essere sottoposto a periodiche visite sanitarie e opportunamente addestrato sul corretto comportamento e sulle tecniche aseptiche. Il tipo di vestizione deve essere adeguato alla classe dell'ambiente in cui avviene la preparazione. Per una descrizione esauriente, si vedano le Norme di Buona Preparazione dei Medicinali in Farmacia, capitolo 11. *Aspetti microbiologici dei preparati*.

La pulizia e la disinfezione degli ambienti sono importanti ai fini di eliminare e mantenere sotto controllo gli inquinanti microbici. Gli ambienti devono essere puliti e disinfettati con regolarità giornaliera, la zona di lavoro (cappa, isolatore) deve essere pulita e disinfettata sia all'inizio sia alla fine della preparazione, secondo apposite procedure. I disinfettanti utilizzati devono essere a largo spettro d'azione, utilizzati a rotazione per impedire fenomeni di resistenza, dedicati, opportunamente sterilizzati per gli ambienti di grado A/B. Nelle procedure devono essere stabiliti i tempi massimi tra la fine della lavorazione e la pulizia. Eventuali diluizioni dei disinfettanti devono essere preparate

ed utilizzate subito. Per una valutazione dell'efficacia delle procedure di pulizia e disinfezione, si raccomandano opportune verifiche microbiologiche (per es. mediante tamponi o piastre a contatto). Le attrezzature pulite devono essere conservate in modo da evitare fenomeni di ricontaminazione. Prima della lavorazione successiva occorre verificare l'assenza degli agenti di pulizia e disinfezione.

Deve essere tenuta sotto controllo la contaminazione particellare e microbiologica ambientale, come descritto nelle Norme di Buona Preparazione dei Medicinali in Farmacia, capitolo 11. *Aspetti microbiologici dei preparati*.

Convalida del processo in asepsi.

Data la criticità delle operazioni in asepsi, è necessario convalidarle mediante apposite procedure (media fill) che utilizzano idonei terreni di coltura in sostituzione del prodotto, con frequenza almeno semestrale (o maggiore, in rapporto all'attività del laboratorio). La convalida deve essere effettuata da parte degli stessi operatori addetti alla preparazione aseptica, nello stesso modo e condizioni, nelle stesse postazioni di lavoro. Il numero delle unità ripartite con terreno di coltura deve essere della stessa dimensione della preparazione. Tutte le unità ripartite devono essere sottoposte al saggio di sterilità. La convalida deve dimostrare l'assenza di unità contaminate.

Sterilizzazione terminale del radiofarmaco.

Il processo di sterilizzazione terminale adottato deve essere adeguato per il tipo di prodotto.

Le preparazioni termostabili devono essere sterilizzate al calore nei loro contenitori, mediante un'autoclave dedicata e convalidata come descritto nelle Norme di Buona Preparazione dei Medicinali in Farmacia, capitolo 11. *Aspetti microbiologici dei preparati*. La convalida va periodicamente verificata mediante indicatori biologici, si veda *Argomenti generali sulla sterilità (5.1.)*, *Indicatori biologici di sterilizzazione (5.1.2.)*. La variazione delle condizioni comporta la ripetizione della convalida.

Le preparazioni termolabili che per proprie caratteristiche non possono essere sottoposte ad un trattamento di questo tipo, prima della ripartizione in asepsi devono essere sterilizzate mediante filtrazione con membrane sterili monouso che trattengono i batteri, aventi pori di diametro nominale 0,22 micron o inferiore. Ai fini della sterilità è importante che il tempo tra la preparazione e la ripartizione sia il più breve possibile. Il sistema di filtrazione adottato (cartuccia, membrana) deve essere idoneo per la preparazione, nei termini di portata,

tempi di filtrazione, temperatura, pH, senza interferenze (assorbimento) dei costituenti del prodotto con il sistema di filtrazione.

Deve essere verificata l'integrità del sistema filtrante prima e dopo l'uso, per esempio mediante punto di bolla. I saggi di integrità del filtro devono essere completati prima del rilascio del lotto/preparazione. Nel caso di ^{15}O - H_2O , si può completare il secondo saggio di integrità prima del rilascio del lotto/preparazione solo se il primo è soddisfacente.

12. CONTRATTI ESTERNI

I controlli di qualità possono essere eseguiti da un laboratorio esterno a quello nel quale il radiofarmaco viene preparato, purché siano effettuati in conformità con le presenti norme.

Deve essere disponibile un accordo scritto tra i responsabili generali dei due laboratori, approvato prima che l'attività di controllo cominci, che descriva chiaramente le rispettive responsabilità e quali controlli sono oggetto dell'accordo.

Il laboratorio preparatore (committente):

- individua un responsabile dell'accettazione dei risultati analitici forniti dal trattatista;
- effettua periodiche visite ispettive al laboratorio di controllo per accertarne la conformità alle presenti norme.

Il laboratorio che esegue i controlli (trattatista):

- ha la responsabilità di eseguire i controlli in conformità alle presenti norme;
- permette le visite ispettive da parte del committente;
- informa il committente su qualunque cambiamento apportato ai metodi di analisi.

Il laboratorio committente ha sempre la responsabilità finale del rilascio per l'uso clinico del radiofarmaco.

Cambiamenti apportati all'accordo o ai metodi devono essere approvati dalle due parti prima di metterli in opera.

13. SISTEMI COMPUTERIZZATI

Quando si utilizza un sistema computerizzato per la gestione di dati analitici o della documentazione descritta al cap. 4. delle presenti norme, in sostituzione di registrazioni cartacee o operazioni manuali, il risultato non deve avere un livello di qualità inferiore.

I sistemi computerizzati devono essere sottoposti a programmi di qualifica prima dell'uso e di manutenzione periodica.

Il personale deve essere adeguatamente addestrato all'uso dei sistemi computerizzati.

Deve essere disponibile una convalida appropriata al tipo di sistema computerizzato e devono essere messe in opera procedure che garantiscano la sicurezza di accesso, la protezione, il recupero e la migrazione dei dati da un sistema ad un altro. Per una descrizione più dettagliata della convalida e del controllo di gestione di questi sistemi, si faccia riferimento all'allegato 11 delle GMP europee.

La convalida dei sistemi computerizzati che gestiscono apparecchiature di processo o di analisi fa parte di quella dell'apparecchiatura stessa.

14. GLOSSARIO

Ai fini delle Norme di Buona Preparazione dei Radiofarmaci per Medicina Nucleare, in aggiunta a quanto riportato nella monografia generale "Preparazioni radiofarmaceutiche", sono adottate le seguenti definizioni.

Kit.

Ogni preparazione, per la quale sia stata rilasciata l'autorizzazione all'immissione in commercio (A.I.C.), che deve essere ricostituita e/o combinata con dei radionuclidi nella preparazione radiofarmaceutica finale, generalmente prima del suo uso.

Stabilità di un Radiofarmaco.

Misura della variazione nel tempo della purezza radiochimica di un radiofarmaco eseguita anche in funzione della variazione di parametri chimico-fisici selezionati quali, ad esempio, temperatura, pH e attività iniziale.

Laboratorio di Preparazione dei Radiofarmaci.

Area protetta, posta all'interno delle strutture di Medicina Nucleare, approvata per la detenzione e manipolazione di sorgenti radioattive, in cui si svolgono le preparazioni, il controllo di qualità e le altre attività connesse con la manipolazione dei prodotti radiofarmaceutici.

Preparazione Estemporanea.

Preparazione radiofarmaceutica realizzata nel laboratorio di preparazione dei radiofarmaci in base ad una prescrizione medica od alle indicazioni di una Farmacopea.

Generatore di Radionuclidi.

Sistema di produzione di un radionuclide che utilizza un radionuclide progenitore ad emivita relativamente lunga che decade ad un radionuclide discendente, gene-

ralmente con un periodo di dimezzamento più breve. Il radionuclide discendente è separato poi dal radionuclide progenitore mediante un processo chimico o fisico; ciò permette di utilizzare il discendente ad una distanza considerevole dal sito di produzione dei generatori malgrado il breve tempo di dimezzamento.

Ciclotrone.

Macchina acceleratrice di particelle utilizzata per la produzione *in situ* di radionuclidi emettitori di positroni. Il radionuclide, prodotto in una specifica forma chimica, viene estratto dal bersaglio e raccolto in un flacone sterile attraverso un sistema controllato automaticamente.

Monografia.

Nel contesto di queste norme, si intende il documento che descrive il processo di preparazione ed i controlli di qualità (con le relative specifiche) per una determinata preparazione radiofarmaceutica. La monografia può essere contenuta in una farmacopea oppure nel dossier approvato dalle Autorità competenti (c.d. monografia interna).

Lotto.

Insieme di tutte le unità di preparazione che si ottengono ripartendo nei contenitori finali una stessa massa omogenea di materiale, che è il risultato di una singola serie di operazioni di preparazione.

ALLEGATO A

Preparazioni radiofarmaceutiche ottenute per mezzo di kit

A1. Generalità.

I kit sono garantiti dal produttore per quanto riguarda la purezza chimica, l'apirogenicità, la sterilità e le dimensioni delle particelle.

La preparazione e il controllo di qualità dei radiofarmaci, che prevedono l'uso di tali kit, devono essere eseguiti seguendo strettamente le istruzioni del fabbricante del kit descritte nell'apposita scheda tecnica allegata. La corretta esecuzione delle procedure descritte nel kit è sufficiente a consentire che la qualità della preparazione del prodotto radiomarcato finale venga mantenuta come indicato dal produttore.

Nel caso che si apporti un qualsiasi cambiamento alle indicazioni contenute nella scheda allegata dal produttore al kit e relative a preparazione, controlli di qualità, tempi e modi di conservazione, la preparazione è da considerarsi estemporanea. Quindi non deve essere

condotta seguendo l'allegato A, ma deve essere conforme a quanto descritto in queste Norme per le preparazioni estemporanee.

Nel caso di manipolazione di materiale autologo del paziente, andranno seguite le precauzioni descritte di seguito.

Di norma un singolo operatore non deve eseguire contemporaneamente preparazioni diverse. È ammesso che si possano eseguire di seguito fasi di processo di preparazioni diverse purché l'intervallo tra le fasi sia richiesto dalle singole procedure (per esempio per incubazione della miscela di reazione) e purché l'operatore sia sufficientemente esperto.

A2. Generatore di $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ (molibdeno/tecnezio).

Insieme al generatore di $^{99\text{m}}\text{Tc}$ sono fornite informazioni specifiche, che comprendono istruzioni approvate e certificate per eseguire l'eluizione e per verificare la resa di eluizione e la qualità dell'eluato.

È necessario garantire un facile accesso al generatore di $^{99\text{m}}\text{Tc}$ da parte dell'operatore in modo da consentire il corretto svolgimento delle operazioni manuali. I sistemi di schermatura dei generatori di $^{99\text{m}}\text{Tc}$ devono essere costruiti in modo tale da non disturbare la procedura di eluizione del generatore, e devono ridurre il rischio di perdita o versamento dell'eluato. Gli schermi e il supporto su cui è installato il generatore devono essere facilmente lavabili.

Tutti i tappi di gomma, compresi quelli del flacone contenente la soluzione eluita dal generatore, devono essere trattati prima dell'uso con un agente disinfettante di natura alcolica. L'agente disinfettante deve essere lasciato evaporare, prima dell'inserimento dell'ago, poiché l'introduzione del disinfettante all'interno del liofilizzato potrebbe modificarne le caratteristiche.

Al fine di ridurre la quantità dell'isotopo a lunga vita ^{99}Tc presente negli eluati, il primo eluato ottenuto da un nuovo generatore non deve essere utilizzato per la preparazione dei radiofarmaci di $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Inoltre, le eluizioni successive devono essere effettuate ad intervalli massimi di 24 ore.

Negli intervalli fra le eluizioni è necessario che gli aghi del generatore siano protetti seguendo le istruzioni del fornitore.

Deve essere eseguito un periodico controllo dei generatori di $^{99\text{m}}\text{Tc}$. La frequenza dei controlli dipende da vari fattori quali la provenienza e la stabilità dei materiali e il grado di affidabilità di uno specifico prodotto. Il controllo viene effettuato almeno valutando i seguenti parametri:

- rilascio di ^{99}Mo nel primo eluato di ogni generatore di $^{99\text{m}}\text{Tc}$;

- resa di eluizione calcolata seguendo le istruzioni d'uso del generatore. La resa di eluizione deve essere compresa tra il 110% e il 90% della resa nominale del generatore;
- presenza di ioni alluminio nel primo eluato impiegato per la preparazione, nel caso di radiofarmaci le cui caratteristiche possano essere danneggiate dalla presenza di questi ioni.

I risultati di questi controlli devono essere inclusi nel fascicolo della preparazione (“batch record”).

A3. Controllo di Qualità.

I controlli di qualità da eseguire sono quelli riportati nella scheda tecnica allegata al prodotto o nelle monografie di farmacopea.

A4. Preparazioni con Materiale Autologo del Paziente.

La radiomarcatura di materiale autologo proveniente dal paziente richiede di seguire strettamente le procedure aseptiche atte ad evitare qualunque contaminazione del preparato finale.

Tutti i materiali utilizzati devono essere chiaramente identificati e classificati; reagenti, materiali o soluzioni devono essere approvati per uso umano, e devono essere attentamente verificati al fine di controllare che soddisfino i requisiti richiesti.

Per ogni singola preparazione è necessario eseguire i seguenti controlli per il rilascio:

- identità del paziente;
- percentuale di legame;
- purezza radiochimica, condotta nel modo più rapido possibile;
- vitalità cellulare, se del caso.

**Entrata in vigore dei testi, nelle lingue inglese e francese,
pubblicati nella Farmacopea Europea 6^a edizione**

IL MINISTRO DELLA SALUTE

Visto l'art. 124 del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, modificato dalla legge 7 novembre 1942, n. 1528;

Visto il regolamento per il servizio farmaceutico, approvato con regio decreto 30 settembre 1938, n. 1706;

Vista la legge 9 novembre 1961, n. 1242, relativa alla revisione e pubblicazione della Farmacopea ufficiale;

Vista la legge 22 ottobre 1973, n. 752, relativa alla ratifica ed esecuzione della Convenzione europea per la elaborazione di una Farmacopea europea, adottata a Strasburgo il 22 luglio 1964;

Vista la legge 23 dicembre 1978, n. 833, sulla istituzione del Servizio sanitario nazionale;

Visto l'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, relativa alle disposizioni per l'adempimento degli obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alla Comunità europea (legge comunitaria 1995 - 1997);

Vista la risoluzione AP-CSP (06) 4 adottata in data 29 marzo 2006 dal Consiglio d'Europa, Comitato di sanità pubblica, con la quale è stata decisa l'entrata in vigore dal 1° gennaio 2008 della Farmacopea Europea 6^a edizione (allegato 1 e 2); la 6^a edizione della Farmacopea Europea sostituisce la 5^a edizione completata con la pubblicazione del Supplemento 5.8;

Vista la risoluzione AP-CSP (07) 2 adottata in data 21 febbraio 2007 dal Consiglio d'Europa, Comitato di sanità pubblica, con la quale è stata decisa l'eliminazione dal 1° gennaio 2008 dei testi (2043) acriflavinio monocloruro, (2.9.24) resistenza alla rottura di supposte e ovuli e (2.9.28) saggio per la massa o il volume rilasciato dalle preparazioni liquide e semisolide;

Ritenuto di dovere disporre l'entrata in vigore nel territorio nazionale dei testi adottati, con le relative modifiche, dalle richiamate risoluzioni come previsto dal citato art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, nonché di chiarire che i testi nelle lingue inglese e francese di cui al presente provvedimento sono esclusi dall'ambito di applicazione della disposizione contenuta nell'art. 123, primo comma, lettera *b*), del testo unico delle leggi sanitarie approvato con Regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265;

Decreta:

Art. 1.

1. I testi nelle lingue inglese e francese dei capitoli generali e delle monografie pubblicati nella Farmacopea Europea 6^a edizione, elencati negli allegati al presente decreto, entrano in vigore nel territorio nazionale, come facenti parte della Farmacopea ufficiale della Repubblica italiana, dal 1° gennaio 2008.

2. I testi riportati nella sezione «testi eliminati nella 6^a edizione» della Farmacopea Europea, sono eliminati dalla Farmacopea ufficiale della Repubblica italiana dal 1° gennaio 2008.

3. I testi nelle lingue inglese e francese richiamati al comma 1, non sono oggetto degli obblighi previsti dall'art. 123, primo comma, lettera *b*), del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265. Gli stessi testi, ai sensi dell'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, sono posti a disposizione di qualunque interessato per consultazione e chiarimenti presso la segreteria tecnica della Commissione permanente per la revisione e pubblicazione della Farmacopea ufficiale di cui alla legge 9 novembre 1961, n. 1242.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, 21 dicembre 2007

Il Ministro: TURCO

CONTENUTO DELLA FARMACOPEA EUROPEA 6^a EDIZIONE

NUOVI TESTI
CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.2.57.	Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry	Spectrométrie d'émission atomique à source plasma à couplage inductif	Spettroscopia di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente
2.2.58.	Inductively coupled plasma-mass spectrometry	Spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif	Spettroscopia di massa a plasma accoppiato induttivamente
2.7.28.	Colony-forming cell assay for human haematopoietic progenitor cells	Titration des progéniteurs hématopoïétiques humains formant colonie	Dosaggio delle cellule progenitrici ematopoietiche umane formanti colonia
2.7.29.	Nucleated cell count and viability	Numération et viabilité des cellules nucléées	Conta e vitalità delle cellule nucleate
2.8.20.	Herbal drugs: sampling and sample preparation	Echantillonnage et préparation d'échantillons de drogues végétales	Droghe vegetali: campionamento e preparazione del campione
2.9.41.	Friability of granules and spheroids	Friabilité des granulés et des sphéroïdes	Friabilità di granuli e sferoidi

MONOGRAFIE
VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum cholerae perorale inactivatum	(2327)	Cholera vaccine (inactivated, oral)	Vaccin cholérique oral inactivé	Vaccino inattivato del colera, orale

VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum morbi haemorrhagici cuniculi inactivatum	(2325)	Rabbit haemorrhagic disease vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la maladie hémorragique du lapin	Vaccino inattivato della malattia emorragica del coniglio

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Fluorodopa (¹⁸ F) ab electrophila substitutione solution iniectionis	(1918)	Fluorodopa (¹⁸ F) (prepared by electrophilic substitution) injection	Fluorodopa (¹⁸ F) préparée par substitution électrophile (solution injectable de)	Fluorodopa (¹⁸ F) (preparata mediante sostituzione elettrofila) soluzione iniettabile

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Bistortae rhizoma	(2384)	Bistort rhizome	Bistorte (rhizome de)	Bistorta rizoma
Carthami flos	(2386)	Safflower flower	Carthame (fleur de)	Cartamo fiore
Cellulosum microcrystallinum et carmellosum natricum	(2050)	Microcrystalline cellulose and carmellose sodium	Cellulose microcristalline et carmellose sodique	Cellulosa microcristallina e carmellosa sodica
Dacarbazine	(1691)	Dacarbazine	Dacarbazine	Dacarbazina
Dextranomerum	(2238)	Dextranomer	Dextranomère	Dextranometro
Dorzolamidi hydrochloridum	(2359)	Dorzolamide hydrochloride	Dorzolamide (chlorhydrate de)	Dorzolamide cloridrato
Felbinacum	(2304)	Felbinac	Felbinac	Felbinac
Fexofenadini hydrochloridum	(2280)	Fexofenadine hydrochloride	Fexofénadine (chlorhydrate de)	Fexofenadina cloridrato
Flavoxati hydrochloridum	(1692)	Flavoxate hydrochloride	Flavoxate (chlorhydrate de)	Flavoxato cloridrato
Fluoresceinum	(2348)	Fluorescein	Fluorescéine	Fluoresceina
Glyceroli monocaprylas	(2213)	Glycerol monocaprylate	Glycérol (monocaprylate de)	Glicerolo monocaprilato
Glyceroli monocaprylocapras	(2392)	Glycerol monocaprylocaprate	Glycérol (monocaprylocaprate de)	Glicerolo monocaprilocaprato

Harpagophyti extractum siccum	(1871)	Devil's claw dry extract	Harpagophyton (extrait sec d')	Arpagofito estratto secco
Indinaviri sulfas	(2214)	Indinavir sulphate	Indinavir (sulfate d')	Indanavir solfato
Lansoprazolum	(2219)	Lansoprazole	Lansoprazole	Lansoprazolo
Macrogol 40 sorbitoli heptaoleas	(2396)	Macrogol 40 sorbitol heptaoleate	Macrogol 40 sorbitol (heptaoléate de)	Macrogol 40 sorbitolo eptanoleato
Magnesii citras, anhydricus	(2339)	Magnesium citrate, anhydrous	Magnésium (citrate de) anhydre	Magnesio citrato anidro
Methylergometrini maleas	(1788)	Methylergometrine maleate	Méthylergometrine (maléate de)	Metilergometrina maleato
Moxidectinum ad usum veterinarium	(1656)	Moxidectin for veterinary use	Moxidectine pour usage vétérinaire	Moxidectina per uso veterinario
Norgestimatum	(1732)	Norgestimate	Norgestimate	Norgestimato
Notoginseng radix	(2383)	Notoginseng root	Notoginseng (racine de)	Ginseng radice
Ritonavirum	(2136)	Ritonavir	Ritonavir	Ritonavir
Ropivacaini hydrochloridum monohydricum	(2335)	Ropivacaine hydrochloride monohydrate	Ropivacaïne (chlorhydrate de) monohydraté	Ropivacaina cloridrato monoidrato
Vinpocetinum	(2139)	Vinpocetine	Vinpocétine	Vinpocetina

TESTI REVISIONATI

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
1.	General notices	Prescriptions générales	Prescrizioni generali
2.2.17.	Drop point	Point de goutte	Punto di gocciolamento
2.2.22.	Atomic emission spectrometry	Spectrométrie d'émission atomique	Spettrometria di emissione atomica
2.2.23.	Atomic absorption spectrometry	Spectrométrie d'absorption atomique	Spettrometria di assorbimento atomico
2.6.9.	Abnormal toxicity	Toxicité anormale	Tossicità anormale
4.	Reagents	Réactifs	Reattivi
5.1.4.	Microbiological quality of pharmaceutical preparations	Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques	Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche
5.3.	Statistical analysis of results of biological assays and tests	Analyse statistique des résultats des dosages et essais biologiques	Analisi statistica dei risultati dei dosaggi e dei saggi biologici

MONOGRAFIE

MONOGRAFIE GENERALI

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Anticorpora monoclonalia ad usum humanum	(2031)	Monoclonal antibodies for human use	Anticorps monoclonaux pour usage humain	Anticorpi monoclonali per uso umano
Corpora ad usum pharmaceuticum	(2034)	Substances for pharmaceutical use	Substances pour usage pharmaceutique	Sostanze per uso farmaceutico

FORME FARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Ophthalmica	(1163)	Eye preparations	Préparations ophtalmiques	Preparazioni oftalmiche
Rectalia	(1145)	Rectal preparations	Préparations rectales	Preparazioni rettali
Vaginalia	(1164)	Vaginal preparations	Préparations vaginales	Preparazioni vaginali

VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum influenzae inactivatum ex corticis antigeniis praeparatum virosomale	(2053)	Influenza vaccine (surface antigen, inactivated, virosome)	Vaccin grippal inactivé (antigène de surface, virosomal)	Vaccino inattivato dell'influenza preparato con l'antigene virosomiale di superficie

VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum bursitidis infectivae aviariae inactivatum	(0960)	Avian infectious bursal disease vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la bursite infectieuse aviaire	Vaccino inattivato della bursite infettiva aviaria

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acidum palmiticum	(1904)	Palmitic acid	Palmitique (acide)	Acido palmitico
Adenosinum	(1486)	Adenosine	Adénosine	Adenosina
Albumini humani solutio	(0255)	Human albumin solution	Albumine humaine (solution d')	Albumina umana soluzione
Allopurinolum	(0576)	Allopurinol	Allopurinol	Allopurinolo
Alteplasm ad iniectionabile	(1170)	Alteplase for injection	Altéplase pour solution injectable	Alteplasi per preparazione iniettabile
Amitriptylini hydrochloridum	(0464)	Amitriptyline hydrochloride	Amitriptyline (chlorhydrate d')	Amitriptilina cloridrato
Ascorbylis palmitas	(0807)	Ascorbyl palmitate	Ascorbyle (palmitate d')	Ascorbile palmitato
Benzbromaronum	(1393)	Benzbromarone	Benzbromarone	Benzbromarone
Boldi folium	(1396)	Boldo leaf	Boldo (feuille de)	Boldo foglia
tert-Butylamini perindoprilum	(2019)	Perindopril tert-butylamine	Périndopril tert-butylamine	Perindopril tert-butilamina
Calendulae flos	(1297)	Calendula flower	Souci	Calendula fiore
Cefamandoli nafas	(1402)	Cefamandole nafate	Céfamandole (nafate de)	Cefamandolo nafato
Cefepimi dihydrochloridum monohydricum	(2126)	Cefepime dihydrochloride monohydrate	Céfépime (dichlorhydrate de) monohydraté	Cefepima dicloridrato monoidrato
Cetyl palmitas	(1906)	Cetyl palmitate	Cétyle (palmitate de)	Cetile palmitato
Chlortalidonum	(0546)	Chlortalidone	Chlortalidone	Clortalidone
Cholecalciferolum	(0072)	Cholecalciferol	Cholécalciférol	Colecalciferolo
Chondroitini natrii sulfas	(2064)	Chondroitin sulphate sodium	Chondroïtine (sulfate sodique de)	Condroitin solfato sodico
Chymotrypsinum	(0476)	Chymotrypsin	Chymotrypsine	Chimotripsina
Clonidini hydrochloridum	(0477)	Clonidine hydrochloride	Clonidine (chlorhydrate de)	Clonidina cloridrato
Clozapinum	(1191)	Clozapine	Clozapine	Clozapina
Cupri sulfas anhydricus	(0893)	Copper sulphate, anhydrous	Cuivre (sulfate de) anhydre	Rame solfato anidro
Cupri sulfas pentahydricus	(0894)	Copper sulphate pentahydrate	Cuivre (sulfate de) pentahydraté	Rame solfato pentaidrato
Dalteparinum natricum	(1195)	Dalteparin sodium	Daltéparine sodique	Dalteparina sodica
Danaparoidum natricum	(2090)	Danaparoid sodium	Danaparoiide sodique	Danaparoid sodico
Diclofenacum kalicum	(1508)	Diclofenac potassium	Diclofénac potassique	Diclofenac potassico
Diclofenacum natricum	(1002)	Diclofenac sodium	Diclofénac sodique	Diclofenac sodico
Diethylcarbamazini citras	(0271)	Diethylcarbamazine citrate	Diéthylcarbamazine (citrate de)	Dietilcarbamazina citrato
Dipyridamolum	(1199)	Dipyridamole	Dipyridamole	Dipiridamolo
Dopamini hydrochloridum	(0664)	Dopamine hydrochloride	Dopamine (chlorhydrate de)	Dopamina cloridrato
Enoxaparinum natricum	(1097)	Enoxaparin sodium	Enoxaparine sodique	Enoxaparina sodica
Erythropoietini solutio concentrata	(1316)	Erythropoietin concentrated solution	Erythropoïétine (solution concentrée d')	Eritropoietina soluzione concentrata
Etodolacum	(1422)	Etodolac	Etodolac	Etodolac
Eucalypti folium	(1320)	Eucalyptus leaf	Eucalyptus (feuille d')	Eucalipto foglia
Fenofibratum	(1322)	Fenofibrate	Fénofibrate	Fenofibrato
Fenoteroli hydrobromidum	(0901)	Fenoterol hydrobromide	Fénotérol (bromhydrate de)	Fenoterolo bromidrato
Fluorouracilum	(0611)	Fluorouracil	Fluorouracile	Fluorouracile
Glucagonum humanum	(1635)	Glucagon, human	Glucagon humain	Glucagone umano
Glyceroli dibehenas	(1427)	Glycerol dibehenate	Glycérol (dibéhénate de)	Glicerolo dibeenato
Gonadotropinum chorionicum	(0498)	Gonadotrophin, chorionic	Gonadotropine chorionique	Gonadotropina corionica
Heparina massae molecularis minoris	(0828)	Heparins, low-molecular-mass	Héparines de basse masse moléculaire	Eparina a bassa massa molecolare
Heparinum calcicum	(0332)	Heparin calcium	Héparine calcique	Eparina calcica
Heparinum natricum	(0333)	Heparin sodium	Héparine sodique	Eparina sodica
Hyaluronidasum	(0912)	Hyaluronidase	Hyaluronidase	Ialuronidasi
Hydrochlorothiazidum	(0394)	Hydrochlorothiazide	Hydrochlorothiazide	Idroclorotiazide
Immunoglobulinum humanum anti-D	(0557)	Human anti-D immunoglobulin	Immunoglobuline humaine anti-D	Immunoglobulina umana anti-D

Immunoglobulinum humanum anti-D ad usum intravenosum	(1527)	Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration	Immunoglobuline humaine anti-D pour administration par voie intraveineuse	Immunoglobulina umana anti-D per uso endovenoso
Insulinum bovinum	(1637)	Insulin, bovine	Insuline bovine	Insulina bovina
Insulinum porcinum	(1638)	Insulin, porcine	Insuline porcine	Insulina porcina
Ketorolacum trometamolium	(1755)	Ketorolac trometamol	Kétorolac trométamol	Ketorolac trometamolo
Lidocaini hydrochloridum	(0227)	Lidocaine hydrochloride	Lidocaïne (chlorhydrate de)	Lidocaina cloridrato
Macrogoli 15 hydroxystearas	(2052)	Macrogol 15 hydroxystearate	Macrogol 15 (hydroxystéarate de)	Macrogol 15 idrossistearato
Macrogoli oleas	(1618)	Macrogol oleate	Macrogol (oléate de)	Macrogol oleato
Matricariae flos	(0404)	Matricaria flower	Matricaire (fleur de)	Camomilla comune fiore
Medroxyprogesteroni acetatas	(0673)	Medroxyprogesterone acetate	Médroxyprogestérone (acétate de)	Medrossiprogesterone acetato
Metamizolum natricum	(1346)	Metamizole sodium	Métamizole sodique	Metamizolo sodico
Methenaminum	(1545)	Methenamine	Méthénamine	Metenamina
Nadroparinum calcicum	(1134)	Nadroparin calcium	Nadroparine calcique	Nadroparina calcica
Natrii acetatas trihydricus	(0411)	Sodium acetate trihydrate	Sodium (acétate de) trihydraté	Sodio acetato tridrato
Natrii calcii edetas	(0231)	Sodium calcium edetate	Sodium (calcium édétate de)	Sodio calcio edetato
Natrii fluoridum	(0514)	Sodium fluoride	Sodium (fluorure de)	Sodio fluoruro
Natrii hyaluronas	(1472)	Sodium hyaluronate	Sodium (hyaluronate de)	Sodio ialuronato
Nonoxinolum 9	(1454)	Nonoxinol 9	Nonoxinol 9	Nonoxinolo 9
Noradrenalini hydrochloridum	(0732)	Noradrenaline hydrochloride	Noradrénaline (chlorhydrate de)	Noradrenalina cloridrato
Noradrenalini tartras	(0285)	Noradrenaline tartrate	Noradrénaline (tartrate de)	Noradrelina tartrato
Origani herba	(1880)	Oregano	Origan	Origano
Oryzae amyllum	(0349)	Rice starch	Amidon de riz	Amido di riso
Pancreatis pulvis	(0350)	Pancreas powder	Pancréas (poudre de)	Pancreas polvere
Paraffinum solidum	(1034)	Paraffin, hard	Paraffine solide	Paraffina solida
Parnaparinum natricum	(1252)	Parnaparin sodium	Parnaparine sodique	Parnaparina sodica
Paroxetini hydrochloridum anhydricum	(2283)	Paroxetine hydrochloride, anhydrous	Paroxétine (chlorhydrate de) anhydre	Paroxetina cloridrato anidro
Paroxetini hydrochloridum hemihydricum	(2018)	Paroxetine hydrochloride hemihydrate	Paroxétine (chlorhydrate de) hémihydraté	Paroxetina cloridrato emidrato
Pentaerythryli tetranitras dilutus	(1355)	Pentaerythrityl tetranitrate, diluted	Pentaérythryle (tétranitrate de) dilué	Pentaeritritile tetranitrato diluito
Pepsini pulvis	(0682)	Pepsin powder	Pepsine (poudre de)	Pepsina polvere
Pholcodinum	(0522)	Pholcodine	Pholcodine	Folcodina
Plantaginis lanceolatae folium	(1884)	Ribwort plantain	Plantain lancéolé	Piantaggine
Plasma humanum ad separationem	(0853)	Human plasma for fractionation	Plasma humain pour fractionnement	Plasma umano per frazionamento
Promethazini hydrochloridum	(0524)	Promethazine hydrochloride	Prométhazine (chlorhydrate de)	Prometazina cloridrato
Prothrombinum multiplex humanum	(0554)	Human prothrombin complex	Complexe prothrombique humain	Protrombina umana complesso
Riboflavinum	(0292)	Riboflavin	Riboflavine	Riboflavina
Ricini oleum hydrogenatum	(1497)	Castor oil, hydrogenated	Ricin (huile de) hydrogénée	Olio di ricino idrogenato
Squalanum	(1630)	Squalane	Squalane	Squalano
Tinzaparinum natricum	(1271)	Tinzaparin sodium	Tinzaparine sodique	Tinzaparina sodica
Trimipramini maleas	(0534)	Trimipramine maleate	Trimipramine (maléate de)	Trimipramina maleato
Trypsinum	(0694)	Trypsin	Trypsine	Tripsina
Urofollitropinum	(0958)	Urofollitropin	Urofollitropine	Urofollitropina
Urokinasum	(0695)	Urokinase	Urokinase	Urokinasi
Warfarinum natricum	(0698)	Warfarin sodium	Warfarine sodique	Warfarin sodico
Warfarinum natricum clathratum	(0699)	Warfarin sodium clathrate	Warfarine sodique clathrate	Warfarin sodico clatrato
Yohimbini hydrochloridum	(2172)	Yohimbine hydrochloride	Yohimbine (chlorhydrate de)	Iombina cloridrato

TESTI CORRETTI
CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.2.20.	Potentiometric titration	Titrage potentiométrique	Titolazione potenziometrica
2.4.8.	Heavy metals	Métaux lourds	Metalli pesanti
2.4.15.	Nickel in polyols	Nickel dans les polyols	Nichel nei polioli
2.4.29	Composition of fatty acids in oils rich in omega-3-acids	Composition en acides gras des huiles riches en acides oméga-3	Composizione in acidi grassi degli oli ricchi di acidi grassi omega-3
2.5.12.	Water: semi-micro determination	Semi-microdosage de l'eau	Semi-micro determinazione dell'acqua
2.5.33.	Total protein	Protéines totales	Proteine totali
2.6.13.	Microbiological examination of non-sterile products: test for specified micro-organisms	Contrôle microbiologique des produits non stériles: recherche de microorganismes spécifiés	Contaminazione microbica dei prodotti non obbligatoriamente sterili: saggi per i microrganismi specificati
2.7.2.	Microbiological assay of antibiotics	Titrage microbiologique des antibiotiques	Dosaggio microbiologico degli antibiotici
2.7.6.	Assay of diphtheria vaccine (adsorbed)	Titrage de l'activité du vaccin diphtérique adsorbé	Dosaggio del vaccino difterico adsorbito
2.7.8.	Assay of tetanus vaccine (adsorbed)	Titrage de l'activité du vaccin tétanique adsorbé	Dosaggio del vaccino tetanico adsorbito
2.8.12.	Determination of essential oils in vegetable drugs	Détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales	Determinazione delle essenze nelle droghe vegetali <i>(la correzione riguarda solo il testo inglese)</i>
3.1.1.1.	Materials based on plasticised poly(vinyl chloride) for containers for human blood and blood components	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour récipients destinés à contenir le sang humain et les produits du sang	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per sangue umano e sue frazioni
3.1.1.2.	Materials based on plasticised poly(vinyl chloride) for tubing used in sets for the transfusion of blood and blood components	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour tubulures utilisées dans les nécessaires pour transfusion du sang et des composants sanguins	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per tubi usati per la trasfusione di sangue e sue frazioni
3.1.3.	Polyolefines	Polyoléfines	Poliiolefine
3.1.4.	Polyethylene without additives for containers for parenteral preparations and for ophthalmic preparations	Polyéthylène sans additif pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques	Polietilene senza additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche <i>(la correzione riguarda solo il testo inglese)</i>
3.1.5.	Polyethylene with additives for containers for parenteral preparations and for ophthalmic preparations	Polyéthylène avec additifs pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques	Polietilene con additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche
3.1.6.	Polypropylene for containers and closures for parenteral preparations and ophthalmic preparations	Polypropylène pour récipients et fermetures destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques	Polipropilene per contenitori e chiusure per preparazioni parenterali ed oftalmiche
3.1.10.	Materials based on non-plasticised poly(vinyl chloride) for containers for non-injectable, aqueous solutions	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) non plastifié pour conditionnement des solutions aqueuses non injectables	Materiali a base di polivinile cloruro non plastificato per contenitori per soluzioni acquose non iniettabili
3.1.11.	Materials based on non-plasticised poly(vinyl chloride) for containers for dry dosage forms for oral administration	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) non plastifié pour conditionnement de formes sèches pour administration par voie orale	Materiali a base di polivinile cloruro non plastificato per contenitori per forme farmaceutiche essiccate per uso orale
3.1.14.	Materials based on plasticised poly(vinyl chloride) for containers for aqueous solutions for intravenous infusion	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour récipients destinés à contenir les solutions aqueuses pour perfusion intraveineuse	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per soluzioni acquose per infusione endovenosa
3.1.15.	Polyethylene terephthalate for containers for preparations not for parenteral use	Poly(téréphtalate d'éthylène) pour récipients pour préparations à usage non parentéral	Polietilene tereftalato per contenitori per preparazioni per uso non parenterale

3.2.2.1.	Plastic containers for aqueous solutions for infusion	Réipients en matière plastique destinés au conditionnement des solutions aqueuses pour perfusion	Contenitori in plastica per soluzioni acquose per infusione
3.2.9.	Rubber closures for containers for aqueous parenteral preparations, for powders and for freeze-dried powders	Fermetures en caoutchouc pour récipients destinés aux préparations parentérales aqueuses, aux poudres et aux poudres cryodesséchées	Chiusure in materiale elastomero per contenitori per preparazioni acquose ad uso parenterale, per polveri e per polveri liofilizzate
5.2.1.	Terminology used in monographs on biological products	Terminologie utilisée dans les monographies sur les produits biologiques	Terminologia usata nelle monografie dei prodotti biologici
5.14.	Gene transfer medicinal products for human use	Médicaments de transfert génétique pour usage humain	Medicinali per il trasferimento genico per uso umano

**MONOGRAFIE
MONOGRAFIE GENERALI**

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Plantae medicinales	(1433)	Herbal drugs	Drogues végétales	Droghe vegetali

FORME FARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
-	(1502)	Glossary	Glossaire	Glossario (<i>la correzione riguarda solo il testo francese</i>)

VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum diphtheriae adsorbatum	(0443)	Diphtheria vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique adsorbé	Vaccino difterico adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum	(1931)	Diphtheria, tetanus and pertussis (acellular, component) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique et coquelucheux (acellulaire, multicomposé) adsorbé	Vaccino difterico, tetanico e pertossico (acellulare, multicomposto), adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis cumque cellulis ex elementis praeparatum et haemophili stirpe b coniugatum adsorbatum	(1932)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé) et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum et poliomyelitidis inactivatum adsorbatum	(1934)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component) and poliomyelitis (inactivated) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé) et poliomyélitique (inactivé) adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) e della poliomielite (inattivato), adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum, poliomyelitidis inactivatum et haemophili stirpe b coniugatum adsorbatum	(2065)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component), poliomyelitis (inactivated) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé), poliomyélitique (inactivé) et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto), della poliomielite (inattivato) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum, hepatitis B (ADNr), poliomyelitidis inactivatum et haemophili stirpe b coniugatum adsorbatum	(2067)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component), hepatitis B (rDNA), poliomyelitis (inactivated) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé), de l'hépatite B (ADNr), poliomyélitique (inactivé) et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) dell'epatite B (DNAr), della poliomielite (inattivato) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum et hepatitis B (ADNr) adsorbatum	(1933)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component) and hepatitis B (rDNA) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé) et de l'hépatite B (ADNr), adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) e dell'epatite B (DNAr), adsorbito

Vaccinum haemophili stirpe b coniugatum	(1219)	Haemophilus type b conjugate vaccine	Vaccin conjugué de l'haemophilus type b	Vaccino coniugato dell'emofilo tipo b
Vaccinum meningococcale classis C coniugatum	(2112)	Meningococcal group C conjugate vaccine	Vaccin conjugué méningococcique groupe C	Vaccino meningococcico gruppo C coniugato
Vaccinum pertussis sine cellulis copurificatum adsorbatum	(1595)	Pertussis vaccine (acellular, co-purified, adsorbed)	Vaccin coquelucheux (adsorbé, copurifié, acellulaire)	Vaccino pertossico (acellulare, co-purificato, adsorbito)
Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum	(1356)	Pertussis vaccine (acellular, component, adsorbed)	Vaccin coquelucheux (adsorbé, multicomposé, acellulaire)	Vaccino della pertosse (acellulare, multicomposto, adsorbito)
Vaccinum tetani adsorbatum	(0452)	Tetanus vaccine (adsorbed)	Vaccin tétanique adsorbé	Vaccino tetanico adsorbito
Vaccinum variolae vivum	(0164)	Smallpox vaccine (live)	Vaccin vivant de la variole	Vaccino vivo del vaiolo

VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum brucellosis (Brucella melitensis stirpe rev. 1) vivum ad usum veterinarium	(0793)	Brucellosis vaccine (live) (Brucella melitensis rev. 1 strain) for veterinary use	Vaccin vivant de la brucellose (Brucella melitensis souche rev. 1) pour usage vétérinaire	Vaccino vivo della brucellosi (Brucella melitensis ceppo rev. 1) per uso veterinario
Vaccinum calicivirosis felinae vivum	(1102)	Feline calicivirosis vaccine (live)	Vaccin vivant de la calicivirose du chat	Vaccino vivo dell'infezione da calicivirus del gatto
Vaccinum morbi Aujeszkyi ad usum parenteralem	(0745)	Aujeszky's disease vaccine (live) for pigs for parenteral administration	Vaccin vivant de la maladie d'Aujeszky pour le porc pour administration parentérale	Vaccino vivo della malattia di Aujeszky per il suino per uso parenterale
Vaccinum morbi Carrei vivum ad canem	(0448)	Canine distemper vaccine (live)	Vaccin vivant de la maladie de Carré pour le chien	Vaccino vivo del cimurro per il cane
Vaccinum morbi Carrei vivum ad mustelidas	(0449)	Distemper vaccine (live) for mustelids	Vaccin vivant de la maladie Carré pour mustélidés	Vaccino vivo del cimurro per mustelidi
Vaccinum rhinotracheitidis infectivae bovinae vivum	(0696)	Infectious bovine rhinotracheitis vaccine (live)	Vaccin vivant de la rhinotrachéite infectieuse bovine	Vaccino vivo della rinotracheite infettiva bovina
Vaccinum viri parainfluenzae bovini vivum	(1176)	Bovine parainfluenza virus vaccine (live)	Vaccin vivant du virus parainfluenza bovin	Vaccino vivo del virus della parainfluenza bovina
Vaccinum viri syncytialis meatus spiritus bovini vivum	(1177)	Bovine respiratory syncytial virus vaccine (live)	Vaccin vivant du virus syncytial respiratoire bovin	Vaccino vivo del virus sinciziale respiratorio bovino

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Indii (¹¹¹ In) pentetatis solutio iniectionis	(0670)	Indium (¹¹¹ In) pentetate injection	Indium (¹¹¹ In) (pentétate d'), solution injectable de	Indio (¹¹¹ In) pentetato preparazione iniettabile
Strontii (⁸⁹ Sr) chloridi solutio iniectionis	(1475)	Strontium (⁸⁹ Sr) chloride injection	Strontium (⁸⁹ Sr) (chlorure de), solution injectable de	Stronzio (⁸⁹ Sr) cloruro preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) macrosalbi suspensio iniectionis	(0296)	Technetium (^{99m} Tc) macrosalb injection	Technétium (^{99m} Tc) (macrosalb-), suspension injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) macrosalb sospensione iniettabile

PREPARAZIONI OMEOPATICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Cadmii sulfas ad praeparationes homoeopathicas	(2143)	Cadmium sulphate hydrate for homoeopathic preparations	Cadmium (sulfate de) hydraté pour préparations homéopathiques	Cadmio solfato idrato per preparazioni omeopatiche
Croci stigma ad praeparationes homoeopathicas	(1624)	Saffron for homoeopathic preparations	Safran pour préparations homéopathiques	Zafferano per preparazioni omeopatiche
Cupri acetate monohydricus ad praeparationes homoeopathicas	(2146)	Copper acetate monohydrate for homoeopathic preparations	Cuivre (acétate de) monohydraté pour préparations homéopathiques	Rame acetato monoidrato per preparazioni omeopatiche
Cuprum ad praeparationes homoeopathicas	(1610)	Copper for homoeopathic preparations	Cuivre pour préparations homéopathiques	Rame per preparazioni omeopatiche

Ferrum ad praeparationes homoeopathicas	(2026)	Iron for homoeopathic preparations	Fer pour préparations homéopathiques	Ferro per preparazioni omeopatiche
Hedera helix ad praeparationes homoeopathicas	(2092)	Hedera helix for homoeopathic preparations	Lierre grim pant pour préparations homéopathiques	Edera per preparazioni omeopatiche
Hyoscyamus niger ad praeparationes homoeopathicas	(2091)	Hyoscyamus for homoeopathic preparations	Jusquiamе noire pour préparations homéopathiques	Giusquiamo per preparazioni omeopatiche
Hypericum perforatum ad praeparationes homoeopathicas	(2028)	Hypericum for homoeopathic preparations	Millepertuis pour préparations homéopathiques	Iperico per preparazioni omeopatiche
Semecarpus anacardium ad praeparationes homoeopathicas	(2094)	Oriental cashew for homoeopathic preparations	Anacardier d'Orient pour préparations homéopathiques	Anacardio orientale per preparazioni omeopatiche
Urtica dioica ad praeparationes homoeopathicas	(2030)	Common stinging nettle for homoeopathic preparations	Ortie dioïque pour préparations homéopathiques	Urtica dioica per preparazioni omeopatiche

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Absinthii herba	(1380)	Wormwood	Absinthe	Assenzio
Acaciae gummi	(0307)	Acacia	Gomme arabique	Gomma arabica
Acaciae gummi dispersione desiccatum	(0308)	Acacia, spray-dried	Gomme arabique (nébulisat de)	Gomma arabica, liofilizzato
Acamprosate calcicum	(1585)	Acamprosate calcium	Acamprosate calcique	Acamprosato calcico
Acebutololi hydrochloridum	(0871)	Acebutolol hydrochloride	Acébutolol (chlorhydrate d')	Acebutololo cloridrato
Aceclofenacum	(1281)	Aceclofenac	Acéclofénac	Aceclofenac
Acesulfamum kalicum	(1282)	Acesulfame potassium	Acésulfame potassique	Acesulfame potassico
Acetazolamidum	(0454)	Acetazolamide	Acétazolamide	Acetazolamide
Acetylcholini chloridum	(1485)	Acetylcholine chloride	Acétylcholine (chlorure d')	Acetilcolina cloruro
Acetylcysteinum	(0967)	Acetylcysteine	Acétylcysteine	Acetilcisteina
β-Acetyldigoxinum	(2168)	β-Acetyldigoxin	β-Acétyldigoxine	β-Acetildigossina
N-Acetyltyrosinum	(1384)	N-Acetyltyrosine	N-Acétyltyrosine	N-Acetil tirosina
N-Acetyltryptophanum	(1383)	N-Acetyltryptophan	N-Acétyltryptophane	N-Acetil triptofano
Acidi methacrylici et methylis methacrylas polymerisatum 1:1	(1127)	Methacrylic acid – methyl methacrylate copolymer (1:1)	Copolymère d'acide méthacrylique et de méthacrylate de méthyle (1:1)	Acido metacrilico – metile metacrilato copolimero (1:1)
Acidi methacrylici et ethylis acrylas polymerisati 1:1 dispersio 30 per centum	(1129)	Methacrylic acid – ethyl acrylate copolymer (1:1) dispersion 30 per cent	Copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle (1:1) (dispersion de) à 30 pour cent	Acido metacrilico – etile acrilato copolimero (1:1) dispersione 30 per cento
Acidi methacrylici et ethylis acrylas polymerisatum 1:1	(1128)	Methacrylic acid – ethyl acrylate copolymer (1:1)	Copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle (1:1)	Acido metacrilico – etile acrilato copolimero (1:1)
Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum 1:2	(1130)	Methacrylic acid – methyl methacrylate copolymer (1:2)	Copolymère d'acide méthacrylique et de méthacrylate de méthyle (1:2)	Acido metacrilico – metile metacrilato copolimero (1:2)
Acidum acetylsalicylicum	(0309)	Acetylsalicylic acid	Acétylsalicylique (acide)	Acido acetilsalicilico
Acidum adipicum	(1586)	Adipic acid	Adipique (acide)	Acido adipico
Acidum alginicum	(0591)	Alginic acid	Alginiq ue (acide)	Acido alginico
Acidum amidotrizoicum dihydricum	(0873)	Amidotrizoic acid dihydrate	Amidotrizoïque (acide) dihydrate	Acido amidotrizoico diidrato
Acidum aminocaproicum	(0874)	Aminocaproic acid	Aminocaproïque (acide)	Acido aminocaproico
Acidum asparticum	(0797)	Aspartic acid	Aspartique (acide)	Acido aspartico
Acidum benzoicum	(0066)	Benzoic acid	Benzoïque (acide)	Acido benzoico
Acidum boricum	(0001)	Boric acid	Borique (acide)	Acido borico
Acidum chenodeoxycholicum	(1189)	Chenodeoxycholic acid	Chénodésoxycholique (acide)	Acido chenodesossicolico

Acidum citricum anhydricum	(0455)	Citric acid, anhydrous	Citrique (acide) anhydre	Acido citrico anidro
Acidum citricum monohydricum	(0456)	Citric acid, monohydrate	Citrique (acide) monohydraté	Acido citrico monoidrato
Acidum glutamicum	(0750)	Glutamic acid	Glutamique (acide)	Acido glutammico
Acidum iopanoicum	(0700)	Iopanoic acid	Iopanoïque (acide)	Acido iopanoico
Acidum iotalamicum	(0751)	Iotalamic acid	Iotalamique (acide)	Acido iotalamico
Acidum ioxaglicum	(2009)	Ioxaglic acid	Ioxaglique (acide)	Acido ioxaglico
Acidum maleicum	(0365)	Maleic acid	Maléique (acide)	Acido maleico
Acidum malicum	(2080)	Malic acid	Malique (acide)	Acido malico
Acidum mefenamicum	(1240)	Mefenamic acid	Méfénamique (acide)	Acido mefenamico
Acidum nalidixicum	(0701)	Nalidixic acid	Nalidixique (acide)	Acido nalidixico
Acidum nicotinicum	(0459)	Nicotinic acid	Nicotinique (acide)	Acido nicotinicco
Acidum oxolinicum	(1353)	Oxolinic acid	Oxolinique (acide)	Acido oxolinico
Acidum pipemidicum trihydricum	(1743)	Pipemidic acid trihydrate	Pipémidique (acide) trihydraté	Acido pipemidico tridrato
Acidum salicylicum	(0366)	Salicylic acid	Salicylique (acide)	Acido salicilico
Acidum stearicum	(1474)	Stearic acid	Stéarique (acide)	Acido stearico
Acidum tartaricum	(0460)	Tartaric acid	Tartrique (acide)	Acido tartarico
Acidum tolfenamicum	(2039)	Tolfenamic acid	Tolfenamique (acide)	Acido tolfenamico
Acidum tranexamicum	(0875)	Tranexamic acid	Tranexamique (acide)	Acido tranexamico
Acidum trichloroaceticum	(1967)	Trichloroacetic acid	Trichloracétique (acide)	Acido trichloroacetico
Acidum ursodeoxycholicum	(1275)	Ursodeoxycholic acid	Ursodésoxycholique (acide)	Acido ursodesossicolico
Acitretinum	(1385)	Acitretin	Acitrétine	Acitretina
Adeninum	(0800)	Adenine	Adénine	Adenina
Adeps lanae	(0134)	Wool fat	Graisse de laine	Lanolina
Adeps lanae hydrogenatus	(0969)	Wool fat, hydrogenated	Graisse de laine hydrogénée	Lanolina idrogenata
Agar	(0310)	Agar	Agar-agar	Agar
Agni casti fructus	(2147)	Agnus castus fruit	Gattilier (fruit de)	Agnocasto frutto
Agrimoniae herba	(1587)	Agrimony	Aigremoine	Agrimonia
Alaninum	(0752)	Alanine	Alanine	Alanina
Albendazolum	(1386)	Albendazole	Albendazole	Albendazolo
Alchemillae herba	(1387)	Alchemilla	Alchémille	Alchemilla
Alcohol cetylicus et stearylicus emulsificans A	(0801)	Cetostearyl alcohol (type A), emulsifying	Cétostéarylique (alcool) émulsifiant (type A)	Alcool cetostearilico emulsionante (tipo A) <i>(la correzione riguarda solo il testo inglese)</i>
Alcoholes adipis lanae	(0593)	Wool alcohols	Alcools de graisse de laine	Alcooli di lanolina
Allantoinum	(1288)	Allantoin	Allantoïne	Allantoina
Allii sativi bulbi pulvis	(1216)	Garlic powder	Ail (poudre d')	Aglio polvere
Almagatum	(2010)	Almagate	Almagate	Almagato
Aloe barbadensis	(0257)	Aloes, Barbados	Aloès des Barbades	Aloe delle Barbados
Aloe capensis	(0258)	Aloes, Cape	Aloès du Cap	Aloe del Capo
Alprazolamum	(1065)	Alprazolam	Alprazolam	Alprazolam
Alprenololi hydrochloridum	(0876)	Alprenolol hydrochloride	Alprénolol (chlorhydrate d')	Alprenololo cloridrato
Althaeae folium	(1856)	Marshmallow leaf	Guimauve (feuille de)	Altea foglia
Althaeae radix	(1126)	Marshmallow root	Guimauve (racine de)	Altea radice
Aluminii magnesi silicas	(1388)	Aluminium magnesium silicate	Aluminium (silicate d') et de magnésium	Alluminio magnesio silicato
Aluminii oxidum hydricum	(0311)	Aluminium oxide, hydrated	Aluminium (oxyde d') hydraté	Alluminio ossido idrato
Aluminii phosphas hydricus	(1598)	Aluminium phosphate, hydrated	Aluminium (phosphate d') hydraté	Alluminio fosfato idrato
Aluminii phosphatis liquamen	(2166)	Aluminium phosphate gel	Aluminum (phosphate d'), gel de	Alluminio fosfato gel
Ambroxoli hydrochloridum	(1489)	Ambroxol hydrochloride	Ambroxol (chlorhydrate d')	Ambroxolo cloridrato
Amfetamini sulfas	(0368)	Amfetamine sulphate	Amfétamine (sulfate d')	Amfetamina solfato
Amikacini sulfas	(1290)	Amikacin sulphate	Amikacine (sulfate d')	Amikacina solfato

Amikacinum	(1289)	Amikacin	Amikacine	Amikacina
Aminoglutethimidum	(1291)	Aminoglutethimide	Aminoglutéthimide	Aminoglutetimide
Amisulpridum	(1490)	Amisulpride	Amisulpride	Amisulpride
Ammonii bromidum	(1389)	Ammonium bromide	Ammonium (bromure d')	Ammonio bromuro
Ammonii chloridum	(0007)	Ammonium chloride	Ammonium (chlorure d')	Ammonio cloruro
Ammonii hydrogenocarbonas	(1390)	Ammonium hydrogen carbonate	Ammonium (bicarbonate d')	Ammonio bicarbonato
Amobarbitalum	(0594)	Amobarbital	Amobarbital	Amobarbital
Amobarbitalum natricum	(0166)	Amobarbital sodium	Amobarbital sodique	Amobarbital sodico
Amoxicillinum natricum	(0577)	Amoxicillin sodium	Amoxicilline sodique	Amoxicillina sodica
Amoxicillinum trihydricum	(0260)	Amoxicillin trihydrate	Amoxicilline trihydratée	Amoxicillina triidrata
Ampicillinum anhydricum	(0167)	Ampicillin, anhydrous	Ampicilline anhydre	Ampicillina anidra
Ampicillinum natricum	(0578)	Ampicillin sodium	Ampicilline sodique	Ampicillina sodica
Ampicillinum trihydricum	(0168)	Ampicillin trihydrate	Ampicilline trihydratée	Ampicillina triidrata
Angelicae radix	(1857)	Angelica root	Angélique (racine d')	Angelica radice
Antazolini hydrochloridum	(0972)	Antazoline hydrochloride	Antazoline (chlorhydrate d')	Antazolina cloridrato
Antithrombinum III humanum densatum	(0878)	Human antithrombin III concentrate	Antithrombine III humaine (concentré d')	Antitrombina III umana concentrata
Apomorphini hydrochloridum	(0136)	Apomorphine hydrochloride	Apomorphine (chlorhydrate d')	Apomorfini cloridrato
Aqua ad dilutionem solutionum concentratarum ad haemodialysim	(1167)	Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting	Solutions concentrées pour hémodialyse (eau pour dilution des)	Acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi
Arachidis oleum hydrogenatum	(1171)	Arachis oil, hydrogenated	Arachide (huile d') hydrogénée	Olio di arachidi idrogenato
Argenti nitras	(0009)	Silver nitrate	Argent (nitrate d')	Argento nitrato
Argentum colloidal ad usum externum	(2281)	Silver, colloidal, for external use	Argent colloïdal pour usage externe	Argento colloidale per uso esterno
Arginini aspartas	(2096)	Arginine aspartate	Arginine (aspartate de)	Arginina aspartato
Arginini hydrochloridum	(0805)	Arginine hydrochloride	Arginine (chlorhydrate d')	Arginina cloridrato
Argininum	(0806)	Arginine	Arginine	Arginina
Arnicae flos	(1391)	Arnica flower	Arnica (fleur d')	Arnica fiore
Articaini hydrochloridum	(1688)	Articaine hydrochloride	Articaïne (chlorhydrate de)	Articaina cloridrato
Asparaginum monohydricum	(2086)	Asparagine monohydrate	Asparagine monohydraté	Asparagina monoidrato
Aspartamum	(0973)	Aspartame	Aspartam	Aspartame
Astemizolum	(1067)	Astemizole	Astémizole	Astemizolo
Atenololum	(0703)	Atenolol	Aténolol	Atenololo
Atropini sulfas	(0068)	Atropine sulphate	Atropine (sulfate d')	Atropina solfato
Atropinum	(2056)	Atropine	Atropine	Atropina
Aurantii amari flos	(1810)	Bitter-orange flower	Oranger amer (fleur d')	Arancio amaro fiore
Azathioprinum	(0369)	Azathioprine	Azathioprine	Azatioprina
Azelastini hydrochloridum	(1633)	Azelastine hydrochloride	Azélastatine (chlorhydrate d')	Azelastina cloridrato
Bacampicillini hydrochloridum	(0808)	Bacampicillin hydrochloride	Bacampicilline (chlorhydrate de)	Bacampicillina cloridrato
Ballotae nigrae herba	(1858)	Black horehound	Ballote noire	Ballota (Marrubio fetido)
Barbitalum	(0170)	Barbital	Barbital	Barbital
Beclometasoni dipropionas anhydricus	(0654)	Beclometasone dipropionate, anhydrous	Béclométasone (dipropionate de) anhydre	Beclometasone dipropionato anidro
Beclometasoni dipropionas monohydricus	(1709)	Beclometasone dipropionate monohydrate	Béclométasone (dipropionate de) monohydraté	Beclometasone dipropionato monoidrato
Belladonnae folium	(0221)	Belladonna leaf	Belladone (feuille de)	Belladonna foglia
Belladonnae pulvis normatus	(0222)	Belladonna, prepared	Belladone (poudre titrée de)	Belladonna polvere titolata
Bendroflumethiazidum	(0370)	Bendroflumethiazide	Bendrofluméthiazide	Bendroflumetiazide
Benfluorexi hydrochloridum	(1601)	Benfluorex hydrochloride	Benfluorex (chlorhydrate de)	Benfluorex cloridrato
Benperidolum	(1172)	Benperidol	Benpéridol	Benperidolo

Bentonitum	(0467)	Bentonite	Bentonite	Bentonite
Benzethonii chloridum	(0974)	Benzethonium chloride	Benzéthonium (chlorure de)	Benzetionio cloruro
Benzocainum	(0011)	Benzocaine	Benzocaïne	Benzocaina
Benzoylis peroxidum cum aqua	(0704)	Benzoyl peroxide, hydrous	Peroxyde de benzoyle hydraté	Benzoile perossido idrato
Benzylpenicillinum benzathinum	(0373)	Benzylpenicillin, benzathine	Benzathine Benzylpénicilline	Benzilpenicillina benzatinica (la correzione riguarda solo il testo inglese)
Benzylpenicillinum kalicum	(0113)	Benzylpenicillin potassium	Benzylpénicilline potassique	Benzilpenicillina potassica
Benzylpenicillinum natricum	(0114)	Benzylpenicillin sodium	Benzylpénicilline sodique	Benzilpenicillina sodica
Benzylpenicillinum procaimum	(0115)	Benzylpenicillin, procaine	Benzylpénicilline procaïne	Benzilpenicillina procainica
Betahistini dihydrochloridum	(1665)	Betahistine dihydrochloride	Bétahistine (dichlorhydrate de)	Betaistina dicloridrato
Betahistini mesilas	(1071)	Betahistine mesilate	Bétahistine (mésilate de)	Betaistina mesilato
Betamethasoni dipropionas	(0809)	Betamethasone dipropionate	Bétaméthasone (dipropionate de)	Betametasonone dipropionato
Betamethasoni valeras	(0811)	Betamethasone valerate	Bétaméthasone (valérate de)	Betametasonone valerato
Betamethasonum	(0312)	Betamethasone	Bétaméthasone	Betametasonone
Betaxololi hydrochloridum	(1072)	Betaxolol hydrochloride	Bétaxolol (chlorhydrate de)	Betaxololo cloridrato
Betulae folium	(1174)	Birch leaf	Bouleau (feuille de)	Betulla foglia
Bezafibratum	(1394)	Bezafibrate	Bézafibrate	Bezaffibrato
Bifonazolum	(1395)	Bifonazole	Bifonazole	Bifonazolo
Biotinum	(1073)	Biotin	Biotine	Biotina
Biperideni hydrochloridum	(1074)	Biperiden hydrochloride	Bipéridène (chlorhydrate de)	Biperidene cloridrato
Bisacodylum	(0595)	Bisacodyl	Bisacodyl	Bisacodile
Bismuthi subcarbonas	(0012)	Bismuth subcarbonate	Bismuth (sous-carbonate de)	Bismuto sottocarbonato
Bismuthi subgallas	(1493)	Bismuth subgallate	Bismuth (sous-gallate de)	Bismuto sottogallato
Bismuthi subnitras ponderosum	(1494)	Bismuth subnitrate, heavy	Bismuth (sous-nitrate de) lourd	Bismuto sottonitrato pesante
Bismuthi subsalicylas	(1495)	Bismuth subsalicylate	Bismuth (sous-salicylate de)	Bismuto salicilato basico
Bleomycini sulfas	(0976)	Bleomycin sulphate	Bléomycine (sulfate de)	Bleomicina solfato
Borax	(0013)	Borax	Borax	Borace
Bromhexini hydrochloridum	(0706)	Bromhexine hydrochloride	Bromhexine (chlorhydrate de)	Bromexina cloridrato
Bromperidolum	(1178)	Bromperidol	Brompéridol	Bromperidolo
Brompheniraminini maleas	(0977)	Brompheniramine maleate	Bromphéniramine (maléate de)	Bromfeniramina maleato
Brotizolamum	(2197)	Brotizolam	Brotizolam	Brotizolam
Budesonidum	(1075)	Budesonide	Budésonide	Budesonide
Buflomedili hydrochloridum	(1398)	Buflomedil hydrochloride	Buflomédil (chlorhydrate de)	Buflomedil cloridrato
Bumetanidum	(1076)	Bumetanide	Bumétanide	Bumetanide
Bupivacaini hydrochloridum	(0541)	Bupivacaine hydrochloride	Bupivacaïne (chlorhydrate de)	Bupivacaina cloridrato
Buprenorphinum	(1180)	Buprenorphine	Buprénorphine	Buprenorfina
Buspironi hydrochloridum	(1711)	Buspirone hydrochloride	Buspirone (chlorhydrate de)	Buspirone cloridrato
Calcifediolum	(1295)	Calcifediol	Calcifédiol	Calcifediolo
Calcii acetas	(2128)	Calcium acetate	Calcium (acétate de)	Calcio acetato
Calcii ascorbas	(1182)	Calcium ascorbate	Calcium (ascorbate de)	Calcio ascorbato
Calcii carbonas	(0014)	Calcium carbonate	Calcium (carbonate de)	Calcio carbonato
Calcii chloridum dihydricum	(0015)	Calcium chloride dihydrate	Calcium (chlorure de) dihydraté	Calcio cloruro diidrato
Calcii chloridum hexahydricum	(0707)	Calcium chloride hexahydrate	Calcium (chlorure de) hexahydraté	Calcio cloruro esaidrato

Calcii folinas	(0978)	Calcium folinate	Calcium (folinate de)	Calcio folinato
Calcii glucoheptonas	(1399)	Calcium glucoheptonate	Calcium (glucoheptonate de)	Calcio glucoeptonato
Calcii gluconas	(0172)	Calcium gluconate	Calcium (gluconate de)	Calcio gluconato
Calcii gluconas ad iniectionabile	(0979)	Calcium gluconate for injection	Calcium (gluconate de) pour solution injectable	Calcio gluconato per preparazione iniettabile
Calcii glycerophosphas	(0980)	Calcium glycerophosphate	Calcium (glycérophosphate de)	Calcio glicerofosfato
Calcii hydrogenophosphas anhydricus	(0981)	Calcium hydrogen phosphate, anhydrous	Calcium (hydrogéné-phosphate de) anhydre	Calcio fosfato dibasico anidro
Calcii hydrogenophosphas dihydricus	(0116)	Calcium hydrogen phosphate dihydrate	Calcium (hydrogéné-phosphate de) dihydraté	Calcio fosfato dibasico diidrato
Calcii lactas anhydricus	(2118)	Calcium lactate anhydrous	Calcium (lactate de) anhydre	Calcio lattato anidro
Calcii lactas monohydricus	(2117)	Calcium lactate monohydrate	Calcium (lactate de) monohydraté	Calcio lattato monoidrato
Calcii lactas pentahydricus	(0468)	Calcium lactate pentahydrate	Calcium (lactate de) pentahydraté	Calcio lattato pentaidrato
Calcii lactas trihydricus	(0469)	Calcium lactate trihydrate	Calcium (lactate de) trihydraté	Calcio lattato triidrato
Calcii laevulinas dihydricus	(1296)	Calcium levulinate dihydrate	Calcium (lévulinate de) dihydraté	Calcio levulinato diidrato
Calcii pantothenas	(0470)	Calcium pantothenate	Calcium (pantothénate de)	Calcio pantotenato
Calcii stearas	(0882)	Calcium stearate	Calcium (stéarate de)	Calcio stearato
Calcii sulfas dihydricus	(0982)	Calcium sulphate dihydrate	Calcium (sulfate de) dihydraté	Calcio solfato diidrato
Calcitriolum	(0883)	Calcitriol	Calcitriol	Calcitriolo
D-Camphora	(1400)	D-Camphor	D-Camphre	D-Canfora
Camphora racemica	(0655)	Camphor, racemic	Camphre racémique	Canfora racemica
Capsici fructus	(1859)	Capsicum	Piment de Cayenne	Capsico (Pepe di Cayenna, Peperoncino)
Carbacholum	(1971)	Carbachol	Carbachol	Carbacolo
Carbamazepinum	(0543)	Carbamazepine	Carbamazépine	Carbamazepina
Carbasalatum calcicum	(1185)	Carbasalate calcium	Carbasalate calcique	Carbasalato calcico
Carbidopum	(0755)	Carbidopa	Carbidopa	Carbidopa
Carbo activatus	(0313)	Charcoal, activated	Charbon activé	Carbone attivato
Carbocisteinum	(0885)	Carbocisteine	Carbocistéine	Carbocisteina
Carbomera	(1299)	Carbomers	Carbomères	Carbomeri
Carboplatinum	(1081)	Carboplatin	Carboplatine	Carboplatino
Carboxymethylamylum natricum C	(1566)	Sodium starch glycolate (type C)	Carboxyméthylamidon sodique (type C)	Carbossimetilamido sodico (tipo C)
Carmellosum calcicum	(0886)	Carmellose calcium	Carmellose calcique	Carmellosa calcica
Carmellosum natricum	(0472)	Carmellose sodium	Carmellose sodique	Carmellosa sodica
Carmellosum natricum conexum	(0985)	Croscarmellose sodium	Croscarmellose sodique	Croscarmellosa sodica
Carmellosum natricum, substitutum humile	(1186)	Carmellose sodium, low-substituted	Carmellose sodique faiblement substituée	Carmellosa sodica a bassa sostituzione
Carteololi hydrochloridum	(1972)	Carteolol hydrochloride	Cartéolol (chlorhydrate de)	Carteololo cloridrato
Carvedilolum	(1745)	Carvedilol	Carvédilol	Carvedilolo
Cefaclorum	(0986)	Cefaclor	Céfaclor	Cefaclor
Cefadroxilum monohydricum	(0813)	Cefadroxil monohydrate	Céfadroxil monohydraté	Cefadroxile monoidrato
Cefalexinum monohydricum	(0708)	Cefalexin monohydrate	Céfaléxine monohydraté	Cefalexina monoidrata
Cefapirinum natricum	(1650)	Cefapirin sodicum	Céfapirine sodique	Cefapirina sodica
Cefazolinum natricum	(0988)	Cefazolin sodium	Céfazoline sodique	Cefazolina sodica
Cefiximum	(1188)	Cefixime	Céfixime	Cefixima
Cefoperazonum natricum	(1404)	Cefoperazone sodium	Céfopérazone sodique	Cefoperazone sodico
Cefoxitinum natricum	(0990)	Cefoxitin sodium	Céfoxitine sodique	Cefoxitina sodica
Cefuroximum axetili	(1300)	Cefuroxime axetil	Céfuroxime axétil	Cefuroxima axetile
Cefuroximum natricum	(0992)	Cefuroxime sodium	Céfuroxime sodique	Cefuroxima sodica

Celiprololi hydrochloridum	(1632)	Celiprolol hydrochloride	Céliprolol (chloridate de)	Celiprololo cloridrato
Cellulae stirpes haematopoieticae humanae	(2323)	Human haematopoietic stem cells	Cellules souches hématopoïétiques humaines	Cellule staminali ematopoietiche umane
Cellulosi acetas	(0887)	Cellulose acetate	Cellulose (acétate de)	Cellulosa acetato
Cellulosi acetas butyras	(1406)	Cellulose acetate butyrate	Cellulose (acétate butyrate de)	Cellulosa acetato butirrato
Cellulosi acetas phthalas	(0314)	Cellulose acetate phthalate	Cellulose (acétate phtalate de)	Cellulosa acetato ftalato
Cellulosi pulvis	(0315)	Cellulose, powdered	Cellulose en poudre	Cellulosa polvere
Cellulosum microcrystallinum	(0316)	Cellulose, microcrystalline	Cellulose microcristalline	Cellulosa microcristallina
Centaurii herba	(1301)	Centaury	Centauree (petite)	Centaurea minore
Centellae asiaticae herba	(1498)	Centella	Hydrocotyle	Centella
Cetirizini dihydrochloridum	(1084)	Cetirizine dihydrochloride	Cétirizine (dichlorhydrate de)	Cetirizina dicloridrato
Cetrimidum	(0378)	Cetrimide	Cétrimide	Cetrimide
Cetylpyridinii chloridum	(0379)	Cetylpyridinium chloride	Cétylpyridinium (chlorure de)	Cetilpiridinio cloruro
Chamomillae romanae flos	(0380)	Chamomile flower, Roman	Camomille romaine (fleur de)	Camomilla romana fiore
Chelidonii herba	(1861)	Greater celandine	Chélidoine	Celidonia
Chinini hydrochloridum	(0018)	Quinine hydrochloride	Quinine (chlorhydrate de)	Chinina cloridrato
Chinini sulfas	(0019)	Quinine sulphate	Quinine (sulfate de)	Chinina solfato
Chitosani hydrochloridum	(1774)	Chitosan hydrochloride	Chitosane (chlorhydrate de)	Chitosano cloridrato
Chlorambucilum	(0137)	Chlorambucil	Chlorambucil	Clorambucile
Chloramphenicoli natrii succinas	(0709)	Chloramphenicol sodium succinate	Chloramphénicol (succinate sodique de)	Cloramfenicolo sodio succinato
Chloramphenicoli palmitas	(0473)	Chloramphenicol palmitate	Chloramphénicol (palmitate de)	Cloramfenicolo palmitato
Chloramphenicolum	(0071)	Chloramphenicol	Chloramphénicol	Cloramfenicolo
Chlorcyclizini hydrochloridum	(1086)	Chlorcyclizine hydrochloride	Chlorcyclizine (chlorhydrate de)	Clorciclizina cloridrato
Chlordiazepoxidum	(0656)	Chlordiazepoxide	Chlordiazépoxyde	Clordiazepossido
Chlorhexidini diacetatas	(0657)	Chlorhexidine diacetate	Chlorhexidine (diacétate de)	Clorexidina diacetato
Chlorhexidini dihydrochloridum	(0659)	Chlorhexidine dihydrochloride	Chlorhexidine (dichlorhydrate de)	Clorexidina dicloridrato
Chlorobutanolum anhydricum	(0382)	Chlorobutanol, anhydrous	Chlorobutanol anhydre	Clorobutanolo anidro
Chlorobutanolum hemihydricum	(0383)	Chlorobutanol hemihydrate	Chlorobutanol hémihydraté	Clorobutanolo emiidrato
Chlorocresolum	(0384)	Chlorocresol	Chlorocrésol	Clorocresolo (<i>la correzione riguarda solo il testo francese</i>)
Chloroquini phosphas	(0544)	Chloroquine phosphate	Chloroquine (phosphate de)	Clorochina fosfato
Chlorothiazidum	(0385)	Chlorothiazide	Chlorothiazide	Clorotiazide
Chlorphenamini maleas	(0386)	Chlorphenamine maleate	Chlorphénamine (maléate de)	Clorfenamina maleato
Chlorpromazini hydrochloridum	(0475)	Chlorpromazine hydrochloride	Chlorpromazine (chlorhydrate de)	Clorpromazina cloridrato
Chlorpropamidum	(1087)	Chlorpropamide	Chlorpropamide	Clorpropamide
Cholecalciferoli pulvis	(0574)	Cholecalciferol concentrate (powder form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme pulvérulente	Colecalciferolo concentrato polvere
Cholecalciferolum densatum oleosum	(0575)	Cholecalciferol concentrate (oily form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme huileuse	Colecalciferolo concentrato oleoso
Cholecalciferolum in aqua dispergibile	(0598)	Cholecalciferol concentrate (water-dispersible form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme hydrodispersibile	Colecalciferolo concentrato idrodispersibile
Cimetidini hydrochloridum	(1500)	Cimetidine hydrochloride	Cimétidine (chlorhydrate de)	Cimetidina cloridrato
Cimetidinum	(0756)	Cimetidine	Cimétidine	Cimetidina
Cinchonae cortex	(0174)	Cinchona bark	Quinquina	China corteccia
Cinnarizinum	(0816)	Cinnarizine	Cinnarizine	Cinnarizina

Cisapridi tartras	(1503)	Cisapride tartrate	Cisapride (tartrate de)	Cisapride tartrato
Cisplatinum	(0599)	Cisplatin	Cisplatin	Cisplatino (<i>la correzione riguarda solo il testo inglese</i>)
Clarithromycinum	(1651)	Clarithromycin	Clarithromicine	Claritromicina
Clazurilum ad usum veterinarium	(1714)	Clazuril for veterinary use	Clazuril pour usage vétérinaire	Clazuril per uso veterinario
Clebopridi malas	(1303)	Clebopride malate	Clébopride (malate de)	Clebopride malato
Clemastini fumaras	(1190)	Clemastine fumarate	Clémastine (fumarate de)	Clemastina fumarato
Clindamycini hydrochloridum	(0582)	Clindamycin hydrochloride	Clindamycine (chlorhydrate de)	Clindamicina cloridrato
Clindamycini phosphas	(0996)	Clindamycin phosphate	Clindamycine (phosphate de)	Clindamicina fosfato
Clobazamum	(1974)	Clobazam	Clobazam	Clobazam
Clobetasoli propionas	(2127)	Clobetasol propionate	Clobétasol (propionate de)	Clobetasol propionato
Clobetasoni butyras	(1090)	Clobetasone butyrate	Clobétasone (butyrate de)	Clobetasone butirrato
Clomipramini hydrochloridum	(0889)	Clomipramine hydrochloride	Clomipramine (chlorhydrate de)	Clomipramina cloridrato
Clonazepamum	(0890)	Clonazepam	Clonazépam	Clonazepam
Clotrimazolum	(0757)	Clotrimazole	Clotrimazole	Clotrimazolo
Cocaini hydrochloridum	(0073)	Cocaine hydrochloride	Cocaïne (chlorhydrate de)	Cocaina cloridrato
Codeini phosphas hemihydricus	(0074)	Codeine phosphate hemihydrate	Codéine (phosphate de) hémihydraté	Codeina fosfato emiidrato
Codeini phosphas sesquihydricus	(0075)	Codeine phosphate sesquihydrate	Codéine (phosphate de) sesquihydraté	Codeina fosfato sesquidrato
Codeinum	(0076)	Codeine	Codéine	Codeina
Coffeinum	(0267)	Caffeine	Caféine	Caffeina
Coffeinum monohydricum	(0268)	Caffeine monohydrate	Caféine monohydraté	Caffeina monoidrata
Colae semen	(1504)	Cola	Kola	Cola (Noci di cola)
Colistimethatum natricum	(0319)	Colistimethate sodium	Colistiméthate sodique	Colistimetato sodico
Copolymerum methacrylatis butylati basicum	(1975)	Basic butylated methacrylate copolymer	Copolymère basique de méthacrylate de butyle	Butile metacrilato copolimero basico
Copovidonum	(0891)	Copovidone	Copovidone	Copovidone
Coriandri fructus	(1304)	Coriander	Coriandre	Coriandolo
Cortisoni acetatas	(0321)	Cortisone acetate	Cortisone (acétate de)	Cortisone acetato
Crataegi folii cum flore extractum siccum	(1865)	Hawthorn leaf and flower dry extract	Aubépine (feuille et fleur d') extrait sec de	Biancospino foglia e fiore estratto secco
Crataegi folium cum flore	(1432)	Hawthorn leaf and flower	Aubépine (feuille et fleur d')	Biancospino foglia e fiore
Crataegi fructus	(1220)	Hawthorn berries	Aubépine (baie d')	Biancospino frutto
Crospovidonum	(0892)	Crospovidone	Crospovidone	Crospovidone
Cyamopsidis seminis pulvis	(1218)	Guar	Guar	Guar
Cyanocobalaminum	(0547)	Cyanocobalamin	Cyanocobalamine	Cianocobalamina
Cyclizini hydrochloridum	(1092)	Cyclizine hydrochloride	Cyclizine (chlorhydrate de)	Ciclizina cloridrato
Cyclopentolati hydrochloridum	(1093)	Cyclopentolate hydrochloride	Cyclopentolate (chlorhydrate de)	Ciclopentolato cloridrato
Cynara folium	(1866)	Artichoke leaf	Artichaut (feuille de)	Carciofo foglia
Cysteini hydrochloridum monohydricum	(0895)	Cysteine hydrochloride monohydrate	Cystéine (chlorhydrate de) monohydraté	Cisteina cloridrato monoidrato
Cystinum	(0998)	Cystine	Cystine	Cistina
Dapsonum	(0077)	Dapsone	Dapsone	Dapsone
Deptropini citras	(1308)	Deptropine citrate	Deptropine (citrate de)	Deptropina citrato
Dequalinii chloridum	(1413)	Dequalinium chloride	Déqualinium (chlorure de)	Dequalinio cloruro
Desipramini hydrochloridum	(0481)	Desipramine hydrochloride	Désipramine (chlorhydrate de)	Desipramina cloridrato
Deslanosidum	(0482)	Deslanoside	Deslanoside	Deslanoside
Desoxycortoni acetatas	(0322)	Desoxycortone acetate	Désoxycortone (acétate de)	Desossicortone acetato
Detomidini hydrochloridum ad usum veterinarium	(1414)	Detomidine hydrochloride for veterinary use	Détomidine (chlorhydrate de) pour usage vétérinaire	Detomidina cloridrato per uso veterinario

Dexamethasoni acetas	(0548)	Dexamethasone acetate	Dexaméthasone (acétate de)	Desametasone acetato
Dexamethasonum	(0388)	Dexamethasone	Dexaméthasone	Desametasone
Dexchlorphenirami maleas	(1196)	Dexchlorpheniramine maleate	Dexchlorphéniramine (maléate de)	Dexclorfeniramina maleato
Dextranum 1 ad iniectabile	(1506)	Dextran 1 for injection	Dextran 1 pour préparations injectables	Destrano 1 per preparazione iniettabile
Dextromorami tartras	(0021)	Dextromoramide tartrate	Dextromoramide (tartrate de)	Destromoramide tartrato
Dextropropoxypheni hydrochloridum	(0713)	Dextropropoxyphene hydrochloride	Dextropropoxyphène (chlorhydrate de)	Destropropoxifene cloridrato
Diazoxidum	(0550)	Diazoxide	Diazoxide	Diazossido
Dibrompropamidini diisetionas	(2300)	Dibrompropamide diisetonate	Dibrompropamide (diisetonate de)	Dibrompropamidina diisetionato
Diclazurilum ad usum veterinarium	(1718)	Diclazuril for veterinary use	Diclazuril pour usage vétérinaire	Diclazuril per uso veterinario
Dicloxacillinum natricum	(0663)	Dicloxacin sodium	Dicloxacilline sodique	Dicloxacillina sodica
Dicycloverini hydrochloridum	(1197)	Dicycloverine hydrochloride	Dicyclovérine (chlorhydrate de)	Dicicloverina cloridrato
Dienestrolum	(0483)	Dienestrol	Diènestrol	Dienestrol
Diethylenglycoli palmitostearas	(1415)	Diethylene glycol palmitostearate	Diéthylèneglycol (palmitostéarate de)	Glicole dietilenico palmitostearato
Diethylstilbestrolum	(0484)	Diethylstilbestrol	Diéthylstilbestrol	Dietilstilbestrolo
Digitalis purpureae folium	(0117)	Digitalis leaf	Digitale pourprée (feuille de)	Digitale foglia
Digitoxinum	(0078)	Digitoxin	Digitoxine	Digitossina
Dihydroergotamini mesilas	(0551)	Dihydroergotamine mesilate	Dihydroergotamine (mésilate de)	Diidroergotamina mesilato
Dihydroergotamini tartras	(0600)	Dihydroergotamine tartrate	Dihydroergotamine (tartrate de)	Diidroergotamina tartrato
Dikalii phosphas	(1003)	Dipotassium phosphate	Phosphate dipotassique	Potassio fosfato dibasico
Diltiazemi hydrochloridum	(1004)	Diltiazem hydrochloride	Diltiazem (chlorhydrate de)	Diltiazem cloridrato
Dimenhydrinatum	(0601)	Dimenhydrinate	Dimenhydrinate	Dimenidrinato
Dimetindeni maleas	(1417)	Dimetindene maleate	Dimétindène (maléate de)	Dimetindene maleato
Dinatrii phosphas anhydricus	(1509)	Disodium phosphate, anhydrous	Phosphate disodique anhydre	Sodio fosfato dibasico anidro
Diphenhydramini hydrochloridum	(0023)	Diphenhydramine hydrochloride	Diphénhydramine (chlorhydrate de)	Difenidramina cloridrato
Diphenoxylati hydrochloridum	(0819)	Diphenoxylate hydrochloride	Diphénoxylate (chlorhydrate de)	Difenoxilato cloridrato
Diprophyllum	(0486)	Diprophylline	Diprophylline	Diprofillina
Dirithromycinum	(1313)	Dirithromycin	Dirithromycine	Diritromicina
Disopyramidi phosphas	(1005)	Disopyramide phosphate	Disopyramide (phosphate de)	Disopiramide fosfato
Dithranolum	(1007)	Dithranol	Dithranol	Ditranolo
Dobutamini hydrochloridum	(1200)	Dobutamine hydrochloride	Dobutamine (chlorhydrate de)	Dobutamina cloridrato
Domperidoni maleas	(1008)	Domperidone maleate	Dompéridone (maléate de)	Domperidone maleato
Domperidonum	(1009)	Domperidone	Dompéridone	Domperidone
Dosulepini hydrochloridum	(1314)	Dosulepin hydrochloride	Dosulépine (chlorhydrate de)	Dosulepina cloridrato
Doxaprami hydrochloridum	(1201)	Doxapram hydrochloride	Doxapram (chlorhydrate de)	Doxapram cloridrato
Doxepini hydrochloridum	(1096)	Doxepin hydrochloride	Doxépine (chlorhydrate de)	Doxepina cloridrato
Doxycyclini hyclas	(0272)	Doxycycline hyclate	Doxycycline (hyclate de)	Doxiciclina iclato
Doxycyclinum monohydricum	(0820)	Doxycycline monohydrate	Doxycycline monohydratée	Doxiciclina monoidrata
Droperidolum	(1010)	Droperidol	Dropéridol	Droperidolo
Echinaceae angustifolia radix	(1821)	Narrow-leaved coneflower root	Echinacea angustifolia (racine d')	Echinacea angustifolia radice
Echinaceae pallida radix	(1822)	Pale coneflower root	Echinacea pallida (racine d')	Echinacea pallida radice

Echinaceae purpureae herba	(1823)	Purple coneflower herb	Echinacea purpurea (parties aériennes fleuries d')	Echinacea purpurea parti aeree fiorite
Echinaceae purpureae radix	(1824)	Purple coneflower root	Echinacea purpurea (racine d')	Echinacea purpurea radice
Econazoli nitras	(0665)	Econazole nitrate	Éconazole (nitrate d')	Econazolo nitrato
Eleutherococci radix	(1419)	Eleutherococcus	Éleuthérocoque	Eleuterococco
Emetini hydrochloridum heptahydricum	(0080)	Emetine hydrochloride heptahydrate	Émétine (chlorhydrate d') heptahydraté	Emetina cloridrato eptaidrato
Emetini hydrochloridum pentahydricum	(0081)	Emetine hydrochloride pentahydrate	Émétine (chlorhydrate d') pentahydraté	Emetina cloridrato pentaidrato
Enalapriili maleas	(1420)	Enalapril maleate	Énalapril (maléate d')	Enalapril maleato
Enoxolonum	(1511)	Enoxolone	Enoxolone	Enoxolone
Ephedrini hydrochloridum	(0487)	Ephedrine hydrochloride	Éphédrine (chlorhydrate d')	Efedrina cloridrato
Ephedrini racemici hydrochloridum	(0715)	Ephedrine hydrochloride, racemic	Éphédrine (chlorhydrate d') racémique	Efedrina cloridrato racemica
Ephedrinum anhydricum	(0488)	Ephedrine, anhydrous	Éphédrine anhydre	Efedrina anidra
Ephedrinum hemihydricum	(0489)	Ephedrine hemihydrate	Éphédrine hémihydratée	Efedrina emiidrata
Equiseti herba	(1825)	Equisetum stem	Prêle (tige de)	Equiseto (Coda cavallina)
Ergometrini maleas	(0223)	Ergometrine maleate	Ergométrine (maléate d')	Ergometrina maleato
Erythromycini ethylsuccinas	(0274)	Erythromycin ethylsuccinate	Érythromycine (éthylsuccinate d')	Eritromicina etilsuccinato
Erythromycini stearas	(0490)	Erythromycin stearate	Érythromycine (stéarate d')	Eritromicina stearato
Erythromycinum	(0179)	Erythromycin	Érythromycine	Eritromicina
Esketamini hydrochloridum	(1742)	Esketamine hydrochloride	Èsketamine (chlorhydrate de)	Esketamina cloridrato
Estradioli benzoas	(0139)	Estradiol benzoate	Estradiol (benzoate d')	Estradiolo benzoato
Estradioli valeras	(1614)	Estradiol valerate	Estradiol (valérate d')	Estradiolo valerato
Estriolum	(1203)	Estriol	Estriol	Estriolo
Ethacridini lactas monohydricus	(1591)	Ethacridine lactate monohydrate	Éthacridine (lactate d') monohydraté	Etacridina lattato monoidrato
Ethambutoli hydrochloridum	(0553)	Ethambutol hydrochloride	Éthambutol (chlorhydrate d')	Etambutolo cloridrato
Ethinylestradiolum	(0140)	Ethinylestradiol	Ethinylestradiol	Etinilestradiolo
Ethionamidum	(0141)	Ethionamide	Éthionamide	Etionamide
Ethylcellulosum	(0822)	Ethylcellulose	Éthylcellulose	Etilcellulosa
Etilefrini hydrochloridum	(1205)	Etilefrine hydrochloride	Étiléfrine (chlorhydrate d')	Etilefrina cloridrato
Etofyllinum	(0492)	Etofylline	Étofylline	Etofillina
Factor VII coagulationis humanus	(1224)	Human coagulation factor VII	Facteur VII de coagulation humain	Fattore VII della coagulazione del sangue umano
Factor XI coagulationis humanus	(1644)	Human coagulation factor XI	Facteur XI de coagulation humain	Fattore XI della coagulazione del sangue umano
Fagopiri herba	(2184)	Buckwheat herb	Sarrasin	Grano saraceno
Febantelum ad usum veterinarium	(2176)	Febantel for veterinary use	Fébantel pour usage vétérinaire	Febantel per uso veterinario
Felodipinum	(1013)	Felodipine	Félodipine	Felodipina
Fenbendazolium ad usum veterinarium	(1208)	Fenbendazole for veterinary use	Fenbendazole pour usage vétérinaire	Fenbendazolo per uso veterinario
Fenbufenum	(1209)	Fenbufen	Fenbufène	Fenbufene
Fentanyl citras	(1103)	Fentanyl citrate	Fentanyl (citrate de)	Fentanil citrato
Fentanylum	(1210)	Fentanyl	Fentanyl	Fentanil
Fenticonazoli nitras	(1211)	Fenticonazole nitrate	Fenticonazole (nitrate de)	Fenticonazolo nitrato
Ferrosi fumaras	(0902)	Ferrous fumarate	Fumarate ferreux	Ferroso fumarato
Ferrosi gluconas	(0493)	Ferrous gluconate	Gluconate ferreux	Ferroso gluconato
Ferrosi sulfas desiccatus	(2340)	Ferrous sulphate, dried	Sulfate ferreux desséché	Ferroso solfato essiccato
Filipendulae ulmariae herba	(1868)	Meadowsweet	Reine des prés (sommité fleurie de)	Olmaria
Finasteridum	(1615)	Finasteride	Finastéride	Finasteride
Flubendazolium	(1721)	Flubendazole	Flubendazole	Flubendazolo
Flucloxacillinum natricum	(0668)	Flucloxacillin sodium	Flucloxacilline sodique	Flucloxacillina sodica
Fluconazolium	(2287)	Fluconazole	Fluconazole	Fluconazolo
Flucytosinum	(0766)	Flucytosine	Flucytosine	Flucitosina

Fludrocortisoni acetat	(0767)	Fludrocortisone acetate	Fludrocortisone (acétate de)	Fludrocortisone acetato
Flumazenilum	(1326)	Flumazenil	Flumazénil	Flumazenil
Flumequinum	(1517)	Flumequine	Fluméquine	Flumechina
Flumetasoni pivalas	(1327)	Flumetasone pivalate	Flumétasone (pivalate de)	Flumetasone pivalato
Flunarizini dihydrochloridum	(1722)	Flunarizine dihydrochloride	Flunarizine (dichlorhydrate de)	Flunarizina dicloridrato
Flunitrazepamum	(0717)	Flunitrazepam	Flunitrazépam	Flunitrazepam
Flunixini megluminum ad usum veterinarium	(1696)	Flunixin meglumine for veterinary use	Flunixine méglumine pour usage vétérinaire	Flunixina meglumina per uso veterinario
Fluocinoloni acetamidum	(0494)	Fluocinolone acetamide	Fluocinolone (acétonide de)	Fluocinolone acetamide
Fluocortoloni pivalas	(1212)	Fluocortolone pivalate	Fluocortolone (pivalate de)	Fluocortolone pivalato
Fluoresceinum natrium	(1213)	Fluorescein sodium	Fluorescéine sodique	Fluoresceina sodica
Flupentixoli dihydrochloridum	(1693)	Flupentixol dihydrochloride	Flupentixol (dichlorhydrate de)	Flupentixolo dicloridrato
Flurazepamum monohydrochloridum	(0905)	Flurazepam monohydrochloride	Flurazépam (monochlorhydrate de)	Flurazepam monocloridrato
Fluspirilenum	(1723)	Fluspirilene	Fluspirilène	Fluspirilene
Flutrimazolum	(1424)	Flutrimazole	Flutrimazole	Flutrimazolo
Fosfomicinum calcicum	(1328)	Fosfomycin calcium	Fosfomycine calcique	Fosfomicina calcica
Fosfomicinum natrium	(1329)	Fosfomycin sodium	Fosfomycine sodique	Fosfomicina sodica
Frangulae cortex	(0025)	Frangula bark	Bourdaïne	Frangola corteccia
Fraxini folium	(1600)	Ash leaf	Frêne (feuille de)	Frassino foglia
Fructosum	(0188)	Fructose	Fructose	Fruttosio
Fucus vel Ascophyllum	(1426)	Kelp	Varech	Fuco
Fumariae herba	(1869)	Fumitory	Fumeterre	Fumaria
Furosemidum	(0391)	Furosemide	Furosémide	Furosemide
Galactosum	(1215)	Galactose	Galactose	Galattosio
Gallamini triethiodidum	(0181)	Gallamine triethiodide	Gallamine (triéthiodure de)	Gallamina trietiduro
Gelatina	(0330)	Gelatin	Gélatine	Gelatina
Gentamicini sulfas	(0331)	Gentamicin sulphate	Gentamicine (sulfate de)	Gentamicina solfato
Ginkgonis folium	(1828)	Ginkgo leaf	Ginkgo (feuille de)	Ginkgo foglia
Ginseng radix	(1523)	Ginseng	Ginseng	Ginseng
Glibenclamidum	(0718)	Glibenclamide	Glibenclamide	Glibenclamide
Gliclazidum	(1524)	Gliclazide	Gliclazide	Gliclazide
Glipizidum	(0906)	Glipizide	Glipizide	Glipizide
Glucosum anhydricum	(0177)	Glucose, anhydrous	Glucose anhydre	Glucosio anidro
Glucosum liquidum dispersione desiccatum	(1525)	Glucose, liquid, spray-dried	Glucose liquide (nébulisé de)	Glucosio liquido, nebulizzato essiccato
Glucosum monohydricum	(0178)	Glucose monohydrate	Glucose monohydraté	Glucosio monidrato
Glutathionum	(1670)	Glutathione	Glutathion	Glutatione
Glyceroli monolinoleas	(1429)	Glycerol monolinoleate	Glycérol (monolinoléate de)	Glicerolo monolinoleato
Glyceroli mono-oleas	(1430)	Glycerol mono-oleate	Glycérol (mono-oléate de)	Glicerolo mono-oleato
Glycinum	(0614)	Glycine	Glycine	Glicina
Gossypii oleum hydrogenatum	(1305)	Cottonseed oil, hydrogenated	Coton (huile de) hydrogénée	Olio di semi di cotone idrogenato
Graminis rhizoma	(1306)	Couch grass rhizome	Chiendent (rhizome de)	Gramigna rizoma
Granisetroni hydrochloridum	(1695)	Granisetron hydrochloride	Granisétron (chlorhydrate de)	Granisetron cloridrato
Griseofulvinum	(0182)	Griseofulvin	Griséofulvine	Griseofulvina
Guanethidini monosulfas	(0027)	Guanethidine monosulphate	Guanéthidine (monosulfate de)	Guanetidina monosolfato
Guar galactomannanum	(0908)	Guar galactomannan	Guar (galactomannane du)	Guar galattomannano
Halofantrini hydrochloridum	(1979)	Halofantrine hydrochloride	Halofantrine (chlorhydrate d')	Alofantrina cloridrato
Haloperidolum	(0616)	Haloperidol	Halopéridol	Aloperidolo
Hamamelidis folium	(0909)	Hamamelis leaf	Hamamélis (feuille d')	Amamelide foglia
Harpagophyti radix	(1095)	Devil's claw root	Harpagophyton (racine d')	Arpagofito radice
Hederae folium	(2148)	Ivy leaf	Lierre (feuille de)	Edera foglia
Heptaminoli hydrochloridum	(1980)	Heptaminol hydrochloride	Heptaminol (chlorhydrate d')	Eptaminolo cloridrato

Hexamidini diisetionas	(1436)	Hexamine diisetionate	Hexamine (diisétionate d')	Esamina diisetionato
Hexobarbitalum	(0183)	Hexobarbital	Hexobarbital	Esobarbital
Hibisci sabdariffae flos	(1623)	Roselle	Karkadé	Carcadé
Histamini dihydrochloridum	(0143)	Histamine dihydrochloride	Histamine (dichlorhydrate d')	Istamina dicloridrato
Histidini hydrochloridum monohydricum	(0910)	Histidine hydrochloride monohydrate	Histidine (chlorhydrate d') monohydraté	Istidina cloridrato monoidrato
Histidinum	(0911)	Histidine	Histidine	Istidina
Homatropini hydrobromidum	(0500)	Homatropine hydrobromide	Homatropine (bromhydrate d')	Omatropina bromidrato
Homatropini methylbromidum	(0720)	Homatropine methylbromide	Homatropine (méthylbromure d')	Omatropina metilbromuro
Hydrargyri dichloridum	(0120)	Mercuric chloride	Mercurique (chlorure)	Mercurio dicloruro
Hydrastis rhizoma	(1831)	Goldenseal rhizome	Hydrastis	Idraste rizoma
Hydrocortisoni acetate	(0334)	Hydrocortisone acetate	Hydrocortisone (acétate d')	Idrocortisone acetato
Hydrocortisoni hydrogenosuccinas	(0768)	Hydrocortisone hydrogen succinate	Hydrocortisone (hydrogénosuccinate d')	Idrocortisone idrogeno succinato
Hydrocortisonum	(0335)	Hydrocortisone	Hydrocortisone	Idrocortisone
Hydromorphoni hydrochloridum	(2099)	Hydromorphone hydrochloride	Hydromorphone (chlorhydrate de)	Idromorfone cloridrato
Hydroxocobalamini acetate	(0913)	Hydroxocobalamin acetate	Hydroxocobalamine (acétate d')	Idroxocobalamina acetato
Hydroxocobalamini chloridum	(0914)	Hydroxocobalamin chloride	Hydroxocobalamine (chlorure d')	Idroxocobalamina cloruro
Hydroxocobalamini sulfas	(0915)	Hydroxocobalamin sulphate	Hydroxocobalamine (sulfate d')	Idroxocobalamina solfato
Hydroxyethylcellulosum	(0336)	Hydroxyethylcellulose	Hydroxyéthylcellulose	Idrossietilcellulosa
Hydroxypropylcellulosum	(0337)	Hydroxypropylcellulose	Hydroxypropylcellulose	Idrossipropilcellulosa
Hydroxyzini hydrochloridum	(0916)	Hydroxyzine hydrochloride	Hydroxyzine (chlorhydrate d')	Idroxyzina cloridrato
Hymecromonum	(1786)	Hymecromone	Hymécromone	Imecromone
Hyoscini butylbromidum/ Scopolamini butylbromidum	(0737)	Hyoscine butylbromide	Scopolamine (butylbromure de)	Ioscina butilbromuro/ Scopolamina butilbromuro
Hyperici herba	(1438)	St. John' wort	Millepertuis	Iperico
Hypromellosi phthalas	(0347)	Hypromellose phthalate	Hypromellose (phthalate d')	Ipromellosa ftalato
Hypromellosum	(0348)	Hypromellose	Hypromellose	Ipromellosa
Ibuprofenum	(0721)	Ibuprofen	Ibuprofène	Ibuprofene
Ichthammolum	(0917)	Ichthammol	Ictammol	Ictammolo
Imipenemum	(1226)	Imipenem	Imipénem	Imipenem
Imipramini hydrochloridum	(0029)	Imipramine hydrochloride	Imipramine (chlorhydrate d')	Imipramina cloridrato
Indapamidum	(1108)	Indapamide	Indapamide	Indapamide
Indometacinum	(0092)	Indometacin	Indométagine	Indometacina
Insulini zinci amorphi suspensio iniectionabilis	(0835)	Insulin zinc injectable suspension (amorphous)	Insuline-zinc amorphe (suspension injectable d')	Insulina-zinco amorfa sospensione iniettabile
Insulini zinci cristallini suspensio iniectionabilis	(0836)	Insulin zinc injectable suspension (crystalline)	Insuline-zinc cristalline (suspension injectable d')	Insulina-zinco cristallina sospensione iniettabile
Insulini zinci suspensio iniectionabilis	(0837)	Insulin zinc injectable suspension	Insuline-zinc (suspension injectable d')	Insulina-zinco sospensione iniettabile
Insulinum aspartum	(2084)	Insulin aspart	Insuline asparte	Insulina aspartato
Insulinum biphasicum iniectionabile	(0831)	Insulin injection, biphasic	Insuline biphase (préparation injectable d')	Insulina bifasica preparazione iniettabile
Insulinum humanum	(0838)	Insulin, human	Insuline humaine	Insulina umana
Insulinum isophanum biphasicum iniectionabile	(0832)	Insulin injection, biphasic isophane	Insuline-isophane biphase (préparation injectable d')	Insulina isofano bifasica preparazione iniettabile
Insulinum isophanum iniectionabile	(0833)	Insulin injection, isophane	Insuline-isophane (préparation injectable d')	Insulina isofano preparazione iniettabile

Insulinum lisprum	(2085)	Insulin lispro	Insuline lispro	Insulina lispro
Iopamidolum	(1115)	Iopamidol	Iopamidol	Iopamidolo
Ipecacuanhae pulvis normatus	(0093)	Ipecacuanha, prepared	Ipécacuanha (poudre titrée d')	Ipecacuana polvere titolata
Ipecacuanhae radix	(0094)	Ipecacuanha root	Ipécacuanha (racine d')	Ipecacuana radice
Isoconazoli nitras	(1017)	Isoconazole nitrate	Isoconazole (nitrate d')	Isoconazolo nitrato
Isoconazolium	(1018)	Isoconazole	Isoconazole	Isoconazolo
Isoleucinum	(0770)	Isoleucine	Isoleucine	Isoleucina
Isoniazidum	(0146)	Isoniazid	Isoniazide	Isoniazide
Isosorbidi dinitras dilutus	(1117)	Isosorbide dinitrate, diluted	Isosorbide (dinitrate d')	Isosorbide dinitrato diluito
Isosorbidi mononitras dilutus	(1118)	Isosorbide mononitrate, diluted	Isosorbide (mononitrate d')	Isosorbide mononitrato diluito
Isoxsuprini hydrochloridum	(1119)	Isoxsuprine hydrochloride	Isoxsuprine (chlorhydrate d')	Isoxsuprina cloridrato
Isradipinum	(2110)	Isradipine	Isradipine	Isradipina
Itraconazolium	(1335)	Itraconazole	Itraconazole	Itraconazolo
Ivermectinum	(1336)	Ivermectin	Ivermectine	Ivermectina
Josamycini propionas	(1982)	Josamycin propionate	Josamycine (propionate de)	Iosamicina propionato
Kalii acetat	(1139)	Potassium acetate	Potassium (acétate de)	Potassio acetato
Kalii bromidum	(0184)	Potassium bromide	Potassium (bromure de)	Potassio bromuro
Kalii carbonas	(1557)	Potassium carbonate	Potassium (carbonate de)	Potassio carbonato
Kalii chloridum	(0185)	Potassium chloride	Potassium (chlorure de)	Potassio cloruro
Kalii citras	(0400)	Potassium citrate	Potassium (citrate de)	Potassio citrato
Kalii dihydrogenophosphas	(0920)	Potassium dihydrogen phosphate	Phosphate monopotassique	Potassio fosfato monobasico
Kalii hydrogenoaspartas hemihydricus	(2076)	Potassium hydrogen aspartate hemihydrate	Potassium (hydrogénoaspartate de) hemihydraté	Potassio idrogeno aspartato emidrato <i>(la correzione riguarda solo il testo francese)</i>
Kalii hydrogenocarbonas	(1141)	Potassium hydrogen carbonate	Potassium (bicarbonate de)	Potassio bicarbonato
Kalii hydrogenotartras	(1984)	Potassium hydrogen tartrate	Potassium (hydrogénotartrate de)	Potassio idrogeno tartrato
Kalii hydroxidum	(0840)	Potassium hydroxide	Potassium (hydroxyde de)	Potassio idrossido
Kalii iodidum	(0186)	Potassium iodide	Potassium (iodure de)	Potassio ioduro
Kalii metabisulfis	(2075)	Potassium metabisulphite	Potassium (métabisulfite de)	Potassio metabisolfito
Kalii natrii tartras tetrahydricus	(1986)	Potassium sodium tartrate tetrahydrate	Potassium et de sodium (tartrate de) tétrahydraté	Potassio e sodio tartrato tetraidrato
Kalii nitras	(1465)	Potassium nitrate	Potassium (nitrate de)	Potassio nitrato
Kalii perchloras	(1987)	Potassium perchlorate	Potassium (perchlorate de)	Potassio perclorato
Kalii sorbas	(0618)	Potassium sorbate	Potassium (sorbate de)	Potassio sorbato
Kalii sulfas	(1622)	Potassium sulphate	Potassium (sulfate de)	Potassio solfato
Kanamycini sulfas acidus	(0033)	Kanamycin acid sulphate	Kanamycine (sulfate acide de)	Kanamicina solfato acido
Ketoconazolium	(0921)	Ketoconazole	Kétoconazole	Ketoconazolo
Ketotifeni hydrogenofumaras	(1592)	Ketotifen hydrogen fumarate	Kétotifène (hydrogéno-fumarate de)	Ketotifene idrogeno fumarato
Labetaloli hydrochloridum	(0923)	Labetalol hydrochloride	Labétalol (chlorhydrate de)	Labetalolo cloridrato
Lactitolium monohydricum	(1337)	Lactitol monohydrate	Lactitol monohydraté	Lattitolo monoidrato
Lactosum anhydricum	(1061)	Lactose, anhydrous	Lactose anhydre	Lattosio anidro
Lactosum monohydricum	(0187)	Lactose monohydrate	Lactose monohydraté	Lattosio monoidrato
Lanugo cellulosi absorbens	(0034)	Viscose wadding, absorbent	Ouate viscose hydrophile	Ovatta di viscosa idrofila
Lanugo gossypii absorbens	(0036)	Cotton, absorbent	Coton hydrophile	Ovatta di cotone idrofilo
Leonuri cardiaca herba	(1833)	Motherwort	Agripaume	Cardiaca
Leucinum	(0771)	Leucine	Leucine	Leucina
Levamisoli hydrochloridum	(0726)	Levamisole hydrochloride	Lévamisole (chlorhydrate de)	Levamisolo cloridrato
Levistici radix	(1233)	Lovage root	Livèche (racine de)	Levistico radice
Levocabastini hydrochloridum	(1484)	Levocabastine hydrochloride	Lévocabastine (chlorhydrate de)	Levocabastina cloridrato

Levocarnitinum	(1339)	Levocarnitine	Lévocarnitine	Levocarnitina
Levodopum	(0038)	Levodopa	Lévodopa	Levodopa
Levomepromazini hydrochloridum	(0505)	Levomepromazine hydrochloride	Lévomépromazine (chlorhydrate de)	Levomepromazina cloridrato
Levomepromazini maleas	(0925)	Levomepromazine maleate	Lévomépromazine (maléate de)	Levomepromazina maleato
Levomethadoni hydrochloridum	(1787)	Levomethadone hydrochloride	Lévométhadone (chlorhydrate de)	Levometadone cloridrato
Levonorgestrelum	(0926)	Levonorgestrel	Lévonorgestrel	Levonorgestrel
Levothyroxinum natricum	(0401)	Levothyroxine sodium	Lévothyroxine sodique	Levotiroxina sodica
Lichen islandicus	(1439)	Iceland moss	Lichen d'Islande	Lichene islandico
Lini semen	(0095)	Linseed	Lin (graine de)	Lino seme
Liothyroninum natricum	(0728)	Liothyronine sodium	Liothyronine sodique	Liotironina sodica
Liquiritiae radix	(0277)	Liquorice root	Réglisse (racine de)	Liquirizia radice
Lisinoprilum dihydricum	(1120)	Lisinopril dihydrate	Lisinopril dihydraté	Lisinopril diidrato
Lithii carbonas	(0228)	Lithium carbonate	Lithium (carbonate de)	Litio carbonato
Loperamidi hydrochloridum	(0929)	Loperamide hydrochloride	Lopéramide (chlorhydrate de)	Loperamide cloridrato
Lorazepamum	(1121)	Lorazepam	Lorazépam	Lorazepam
Lupuli flos	(1222)	Hop strobile	Houblon (cône de)	Luppolo fiore
Lynestrenolum	(0558)	Lynestrenol	Lynestrénol	Linestrenolo
Lysini hydrochloridum	(0930)	Lysine hydrochloride	Lysine (chlorhydrate de)	Lisina cloridrato
Lythri herba	(1537)	Loosestrife	Salicaire	Salcerella (Salicaria)
Macrogol 6 glyceroli caprylocapras	(1443)	Macrogol 6 glycerol caprylocaprate	Macrogol 6 glycérol (caprylocaprate de)	Macrogol 6 glicerolo caprilocaprato
Macrogolglyceridorum caprylocaprates	(1184)	Caprylocaproyl macrogolglycerides	Macrogolglycérides caprylocapriques	Macrogolglyceridi caprilocaprici
Macrogolglyceridorum stearates	(1268)	Stearoyl macrogolglycerides	Macrogolglycérides stéariques	Macrogolglyceridi stearici
Macrogolglyceroli cocoates	(1122)	Macrogolglycerol cocoates	Macrogolglycérol (cocoates de)	Macrogolglycerolo cocoato
Macrogoli aether laurilicus	(1124)	Macrogol lauryl ether	Macrogol (éter laurique de)	Macrogol laurile etere
Magaldratum	(1539)	Magaldrate	Magaldrate	Magaldrato (<i>la correzione riguarda solo il testo francese</i>)
Magnesii acetate tetrahydricus	(2035)	Magnesium acetate tetrahydrate	Magnésium (acetate de) tetrahydraté	Magnesio acetato tetraidrato
Magnesii aspartas dihydricus	(1445)	Magnesium aspartate dihydrate	Magnésium (aspartate de) dihydraté	Magnesio aspartato diidrato
Magnesii chloridum 4,5-hydricum	(1341)	Magnesium chloride 4,5-hydrate	Magnésium (chlorure de) 4,5-hydraté	Magnesio cloruro 4,5-idrato
Magnesii chloridum hexahydricum	(0402)	Magnesium chloride hexahydrate	Magnésium (chlorure de) hexahydraté	Magnesio cloruro esaidrato
Magnesii glycerophosphas	(1446)	Magnesium glycerophosphate	Magnésium (glycérphosphate de)	Magnesio glicerofosfato
Magnesii hydroxidum	(0039)	Magnesium hydroxide	Magnésium (hydroxyde de)	Magnesio idrossido
Magnesii oxidum leve	(0040)	Magnesium oxide, light	Magnésium (oxyde de) léger	Magnesio ossido leggero
Magnesii oxidum ponderosum	(0041)	Magnesium oxide, heavy	Magnésium (oxyde de) lourd	Magnesio ossido pesante
Magnesii peroxidum	(1540)	Magnesium peroxide	Magnésium (peroxyde de)	Magnesio perossido
Magnesii stearas	(0229)	Magnesium stearate	Magnésium (stéarate de)	Magnesio stearato
Magnesii subcarbonas levis	(0042)	Magnesium carbonate, light	Magnésium (carbonate de) léger	Magnesio carbonato leggero
Magnesii subcarbonas ponderosus	(0043)	Magnesium carbonate, heavy	Magnésium (carbonate de) lourd	Magnesio carbonato pesante
Magnesii sulfas heptahydricus	(0044)	Magnesium sulphate heptahydrate	Magnésium (sulfate de) heptadihydraté	Magnesio solfato eptaidrato
Magnesii trisilicas	(0403)	Magnesium trisilicate	Magnésium (trisilicate de)	Magnesio trisilicato

Maltitolum	(1235)	Maltitol	Maltitol	Maltitolo
Maltodextrinum	(1542)	Maltodextrin	Maltodextrine	Maltodestrina
Malvae sylvestris flos	(1541)	Mallow flower	Mauve (fleur de)	Malva fiore
Mangani sulfas monohydricus	(1543)	Manganese sulphate monohydrate	Manganèse (sulfate de) monohydraté	Manganese solfato monoidrato
Marrubii herba	(1835)	White horehound	Marrube blanc (parties aériennes fleuries de)	Marrubio bianco (parti aeree fiorite)
Mebendazolum	(0845)	Mebendazole	Mébendazole	Mebendazolo
Megestrol acetate	(1593)	Megestrol acetate	Mégestrol (acétate de)	Megestrol acetato
Megluminum	(2055)	Meglumine	Meglumine	Meglumina
Meliloti herba	(2120)	Melilot	Mélilot	Meliloto
Melissae folium	(1447)	Melissa leaf	Mélisse (feuille de)	Melissa foglia
Menyanthis trifoliatae folium	(1605)	Bogbean leaf	Ményanthe	Trifoglio fibrino
Mepivacaini hydrochloridum	(1242)	Mepivacaine hydrochloride	Mépivacaine (chlorhydrate de)	Mepivacaina cloridrato
Mepyramini maleas	(0278)	Mepyramine maleate	Mépyramine (maléate de)	Mepiramina maleato
Mesalazinum	(1699)	Mesalazine	Mésalazine	Mesalazina
Mesterololum	(1730)	Mesterolone	Mestérolone	Mesterolone
Mestranolum	(0509)	Mestranol	Mestranol	Mestranolo
Metformini hydrochloridum	(0931)	Metformin hydrochloride	Metformine (chlorhydrate de)	Metformina cloridrato
Methadoni hydrochloridum	(0408)	Methadone hydrochloride	Méthadone (chlorhydrate de)	Metadone cloridrato
Methaqualonum	(0510)	Methaqualone	Méthaqualone	Metaqualone
Methioninum	(1027)	Methionine	Méthionine	Metionina
DL-Methioninum	(0624)	DL-Methionine	DL-Méthionine	DL-Metionina
Methylatropini bromidum	(0511)	Methylatropine bromide	Méthylatropine (bromure de)	Metilatropina bromuro
Methylatropini nitras	(0512)	Methylatropine nitrate	Méthylatropine (nitrate de)	Metilatropina nitrato
Methylcellulosum	(0345)	Methylcellulose	Méthylcellulose	Metilcellulosa
Methylhydroxyethylcellulosum	(0346)	Methylhydroxyethylcellulose	Méthylhydroxyéthylcellulose	Metilidrossietilcellulosa
Methylis parahydroxybenzoas	(0409)	Methyl parahydroxybenzoate	Méthyle (parahydroxybenzoate de)	Metile paraidrossibenzoato
Methylis parahydroxybenzoas natricus	(1262)	Sodium methyl parahydroxybenzoate	Méthyle (parahydroxybenzoate de) sodique	Metile paraidrossibenzoato sodico
Methylphenobarbitalum	(0189)	Methylphenobarbital	Méthylphénobarbital	Metilfenobarbital
Methylprednisoloni acetate	(0933)	Methylprednisolone acetate	Méthylprednisolone (acétate de)	Metilprednisolone acetato
Methylprednisoloni hydrogenosuccinas	(1131)	Methylprednisolone hydrogen succinate	Méthylprednisolone (hydrogénosuccinate de)	Metilprednisolone idrogeno succinato
Methylprednisolonum	(0561)	Methylprednisolone	Méthylprednisolone	Metilprednisolone
Methyltestosteronum	(0410)	Methyltestosterone	Méthyltestostérone	Metiltestosterone
Methylthioninii chloridum	(1132)	Methylthioninium chloride	Méthylthionine (chlorure de)	Metiltioninio cloruro
Metoclopramidum	(1348)	Metoclopramide	Métoclopramide	Metoclopramide
Metolazonum	(1757)	Metolazone	Métolazone	Metolazone
Metoprololi succinas	(1448)	Metoprolol succinate	Métoprolol (succinate de)	Metoprololo succinato
Metoprololi tartras	(1028)	Metoprolol tartrate	Métoprolol (tartrate de)	Metoprololo tartrato
Metrifonatum	(1133)	Metrifonate	Métrifonate	Metrifonato
Metronidazolum	(0675)	Metronidazole	Métronidazole	Metronidazolo
Miconazoli nitras	(0513)	Miconazole nitrate	Miconazole (nitrate de)	Miconazolo nitrato
Miconazolum	(0935)	Miconazole	Miconazole	Miconazolo (la correzione riguarda solo il testo francese)
Midazolamum	(0936)	Midazolam	Midazolam	Midazolam
Millefolii herba	(1382)	Yarrow	Achillée millefeuille	Achillea millefoglie
Minocyclini hydrochloridum dihydricum	(1030)	Minocycline hydrochloride dihydrate	Minocycline (chlorhydrate de) dihydraté	Minociclina cloridrato diidrata
Minoxidilum	(0937)	Minoxidil	Minoxidil	Minoxidil

Modafinilum	(2307)	Modafinil	Modafinil	Modafinil
Mometasoni furoas	(1449)	Mometasone furoate	Mométasone (furoate de)	Mometasone furoato
Moranteli hydrogenotartras ad usum veterinarium	(1546)	Morantel hydrogen tartrate for veterinary use	Morantel (hydrogénotartrate de) pour usage vétérinaire	Morantel idrogeno tartrato per uso veterinario
Moxonidinum	(1758)	Moxonidine	Moxonidine	Moxonidina
Mupirocinum	(1450)	Mupirocin	Mupirocine	Mupirocina
Mupirocinum calcicum	(1451)	Mupirocin calcium	Mupirocine calcique	Mupirocina calcica
Myrrha	(1349)	Myrrh	Myrrhe	Mirra
Myrtilli fructus recens	(1602)	Bilberry fruit, fresh	Myrtille (fruit frais de)	Mirtillo nero frutto fresco
Myrtilli fructus siccum	(1588)	Bilberry fruit, dried	Myrtille (fruit sec de)	Mirtillo nero frutto secco
Naftidrofuryli hydrogenooxalal	(1594)	Naftidrofuryl hydrogen oxalate	Naftidrofuryl (hydrogénooxalate de)	Naftidrofurile idrogeno ossalato
Naphazolini hydrochloridum	(0730)	Naphazoline hydrochloride	Naphazoline (chlorhydrate de)	Nafazolina cloridrato
Naphazolini nitras	(0147)	Naphazoline nitrate	Naphazoline (nitrate de)	Nafazolina nitrato
Naproxenum	(0731)	Naproxen	Naproxène	Naproxene
Natrii alginas	(0625)	Sodium alginate	Sodium (alginate de)	Sodio alginato
Natrii aminosalicylas dihydricus	(1993)	Sodium aminosalicylate dihydrate	Sodium (aminosalicylate de) dihydraté	Sodio aminosalicilato diidrato
Natrii ascorbas	(1791)	Sodium ascorbate	Ascorbate sodique	Sodio ascorbato
Natrii aurothiomalas	(1994)	Sodium aurothiomalate	Sodium (aurothiomalate de)	Sodio aurotiomolato
Natrii benzoas	(0123)	Sodium benzoate	Sodium (benzoate de)	Sodio benzoato
Natrii bromidum	(0190)	Sodium bromide	Sodium (bromure de)	Sodio bromuro
Natrii caprylas	(1471)	Sodium caprylate	Sodium (caprylate de)	Sodio caprilato
Natrii chloridum	(0193)	Sodium chloride	Sodium (chlorure de)	Sodio cloruro
Natrii citras	(0412)	Sodium citrate	Sodium (citrate de)	Sodio citrato
Natrii cromoglicas	(0562)	Sodium cromoglicate	Sodium (cromoglicate de)	Sodio cromoglicato
Natrii cyclamas	(0774)	Sodium cyclamate	Sodium (cyclamate de)	Sodio ciclamato
Natrii dihydrogenophosphas dihydricus	(0194)	Sodium dihydrogen phosphate dihydrate	Phosphate monosodique dihydraté	Sodio fosfato monobasico diidrato
Natrii glycerophosphas hydricus	(1995)	Sodium glycerophosphate, hydrated	Sodium (glycèrophosphate de) hydraté	Sodio glicerosfosfato idrato
Natrii hydrogenocarbonas	(0195)	Sodium hydrogen carbonate	Sodium (bicarbonate de)	Sodio bicarbonato
Natrii hydroxidum	(0677)	Sodium hydroxide	Sodium (hydroxyde de)	Sodio idrossido
Natrii iodidum	(0196)	Sodium iodide	Sodium (iodure de)	Sodio ioduro
Natrii molybdas dihydricus	(1565)	Sodium molybdate dihydrate	Sodium (molybdate de) dihydraté	Sodio molibdato diidrato
Natrii perboras hydricus	(1997)	Sodium perborate, hydrated	Sodium (perborate de) hydraté	Sodio perborato idrato
Natrii polystyrenesulfonas	(1909)	Sodium polystyrene sulphonate	Sodium (polystyrène sulfonate de)	Sodio polistirene sulfonato
Natrii propionas	(2041)	Sodium propionate	Sodium (propionate de)	Sodio propionato
Natrii salicylas	(0413)	Sodium salicylate	Sodium (salicylate de)	Sodio salicilato
Natrii stearas	(2058)	Sodium stearate	Sodium (stéarate de)	Sodio stearato
Natrii sulfas anhydricus	(0099)	Sodium sulphate, anhydrous	Sodium (sulfate de) anhydre	Sodio solfato anidro
Natrii sulfas decahydricus	(0100)	Sodium sulphate decahydrate	Sodium (sulfate de) décahydraté	Sodio solfato decaidrato
Natrii valproas	(0678)	Sodium valproate	Sodium (valproate de)	Sodio valproato
Neostigmini bromidum	(0046)	Neostigmine bromide	Néostigmine (bromure de)	Neostigmina bromuro
Neostigmini metilsulfas	(0626)	Neostigmine metilsulfate	Néostigmine (métilsulfate de)	Neostigmina metilsolfato
Netilmicini sulfas	(1351)	Netilmicin sulphate	Nétilmicine (sulfate de)	Netilmicina solfato
Nevirapinum anhydricum	(2255)	Nevirapine, anhydrous	Névirapine anhydre	Nevirapina anidra
Niclosamidum anhydricum	(0679)	Niclosamide, anhydrous	Niclosamide anhydre	Niclosamide anidra
Niclosamidum monohydricum	(0680)	Niclosamide monohydrate	Niclosamide monohydraté	Niclosamide monoidrato
Nicotinamidum	(0047)	Nicotinamide	Nicotinamide	Nicotinamide
Nifedipinum	(0627)	Nifedipine	Nifédipine	Nifedipina
Nifuroxazidum	(1999)	Nifuroxazide	Nifuroxazide	Nifuroxazide
Nimesulidum	(1548)	Nimesulide	Nimésulide	Nimesulide
Nimodipinum	(1245)	Nimodipine	Nimodipine	Nimodipina

Nitrazepamum	(0415)	Nitrazepam	Nitrazépam	Nitrazepam
Nitrendipinum	(1246)	Nitrendipine	Nitrendipine	Nitrendipina
Nitrofuralem	(1135)	Nitrofuralem	Nitrofuralem	Nitrofuralem
Nitrofurantoinum	(0101)	Nitrofurantoin	Nitrofurantoïne	Nitrofurantoina
Nizatidinum	(1453)	Nizatidine	Nizatidine	Nizatidine
Nomegestroli acetat	(1551)	Nomegestrol acetate	Nomégestrol (acétate de)	Nomegestrol acetato
Norethisteroni acetat	(0850)	Norethisterone acetate	Noréthistérone (acétate de)	Noretisterone acetato
Norethisteronum	(0234)	Norethisterone	Noréthistérone	Noretisterone
Norfloxacinum	(1248)	Norfloxacin	Norfloxacine	Norfloxacina
Norgestrelum	(0940)	Norgestrel	Norgestrel	Norgestrel
Nortriptylini hydrochloridum	(0941)	Nortriptyline hydrochloride	Nortriptyline (chlorhydrate de)	Nortriptilina cloridrato
Noscapini hydrochloridum	(0515)	Noscapine hydrochloride	Noscapine (chlorhydrate de)	Noscapina cloridrato
Noscapinum	(0516)	Noscapine	Noscapine	Noscapina
Ofloxacinum	(1455)	Ofloxacin	Ofloxacine	Ofloxacina
Oleae folium	(1878)	Olive leaf	Olivier (feuille d')	Olivo foglia
Olibanum indicum	(2310)	Indian frankincense	Encens indien	Incenso indiano
Olsalazinum natricum	(1457)	Olsalazine sodium	Olsalazine sodique	Olsalazina sodica
Ononidis radix	(1879)	Restharrow root	Bugrane (racine de)	Ononide radice
Opii extractum siccum normatum	(1839)	Opium dry extract, standardised	Opium (extrait sec titré d')	Oppio estratto secco titolato
Opii pulvis normatus	(1840)	Opium, prepared	Opium (poudre titrée)	Oppio polvere titolata
Opii tinctura normata	(1841)	Opium tincture, standardised	Opium (teinture titrée d')	Oppio tintura titolata
Opium crudum	(0777)	Opium, raw	Opium brut	Oppio
Orphenadrini citrat	(1759)	Orphenadrine citrate	Orphénadrine (citrate d')	Orfenadrina citrato
Orphenadrini hydrochloridum	(1760)	Orphenadrine hydrochloride	Orphénadrine (chlorhydrate d')	Orfenadrina cloridrato
Orthosiphonis folium	(1229)	Java tea	Orthosiphon	Thè di Giava (Ortosifon)
Ouabainum	(0048)	Ouabain	Ouabaïne	Ouabaina
Oxaliplatinum	(2017)	Oxaliplatin	Oxaliplatine	Oxaliplatino
Oxazepamum	(0778)	Oxazepam	Oxazépam	Oxazepam
Oxfendazolom ad usum veterinarium	(1458)	Oxfendazole for veterinary use	Oxfendazole pour usage vétérinaire	Oxfendazolo per uso veterinario
Oxitropii bromidum	(2170)	Oxitropium bromide	Oxitropium (bromure d')	Oxitropio bromuro
Oxprenololi hydrochloridum	(0628)	Oxprenolol hydrochloride	Oxprénolol (chlorhydrate d')	Oxprenololo cloridrato
Oxybuprocaini hydrochloridum	(1251)	Oxybuprocaine hydrochloride	Oxybuprocaïne (chlorhydrate d')	Oxibuprocaina cloridrato
Oxybutynini hydrochloridum	(1354)	Oxybutynin hydrochloride	Oxybutynine (chlorhydrate d')	Oxibutinina cloridrato
Oxymetazolini hydrochloridum	(0943)	Oxymetazoline hydrochloride	Oxymétazoline (chlorhydrate d')	Oximetazolina cloridrato
Oxytocinum	(0780)	Oxytocin	Oxytocine	Ossitocina
Paclitaxelum	(1794)	Paclitaxel	Paclitaxel	Paclitaxel
Papaverini hydrochloridum	(0102)	Papaverine hydrochloride	Papavérine (chlorhydrate de)	Papaverina cloridrato
Papaveris rhoeados flos	(1881)	Red poppy petals	Coquelicot (pétales de)	Rosalaccio
Paracetamolom	(0049)	Paracetamol	Paracétamol	Paracetamolo
Paraldehydum	(0351)	Paraldehyde	Paraldéhyde	Paraldeide (la correzione riguarda solo il testo francese)
Passiflorae herba	(1459)	Passion flower	Passiflore	Passiflora
Pelargonii radix	(2264)	Pelargonium root	Pélagonium (racine de)	Pelargonio radice
Penbutololi sulfas	(1461)	Penbutolol sulphate	Penbutolol (sulfate de)	Penbutololo solfato
Penicillaminum	(0566)	Penicillamine	Pénicillamine	Penicillamina
Pentamidini diisetionas	(1137)	Pentamidine diisetonate	Pentamidine (diisetonate de)	Pentamidina diisetionato
Pentazocini lactas	(2000)	Pentazocine lactate	Pentazocine (lactate de)	Pentazocina lattato
Pentobarbitalum	(0200)	Pentobarbital	Pentobarbital	Pentobarbital
Pentobarbitalum natricum	(0419)	Pentobarbital sodium	Pentobarbital sodique	Pentobarbital sodico
Pergolidi mesilas	(1555)	Pergolide mesilate	Pergolide (mésilate de)	Pergolide mesilato

Pethidini hydrochloridum	(0420)	Pethidine hydrochloride	Péthidine (chlorhydrate de)	Petidina cloridrato
Pheniramin maleas	(1357)	Pheniramine maleate	Phéniramine (maléate de)	Feniramina maleato
Phenobarbitalum	(0201)	Phenobarbital	Phénobarbital	Fenobarbital
Phenobarbitalum natricum	(0630)	Phenobarbital sodium	Phénobarbital sodique	Fenobarbital sodico
Phenolphthaleinum	(1584)	Phenolphthalein	Phénolphthaléine	Fenolftaleina
Phenolsulfonphthaleinum	(0242)	Phenolsulfonphthalein	Phénolsulfonephtaléine	Fenolsulfonftaleina
Phenoxymethylpenicillinum	(0148)	Phenoxymethylpenicillin	Phénoxy méthylpénicilline	Fenossimetilpenicillina
Phentolamini mesilas	(1138)	Phentolamine mesilate	Phentolamine (mésilate de)	Fentolamina mesilato
Phenylalaninum	(0782)	Phenylalanine	Phénylalanine	Fenilalanina
Phenylephrini hydrochloridum	(0632)	Phenylephrine hydrochloride	Phényléphrine (chlorhydrate de)	Fenilefrina cloridrato
Phenylephrinum	(1035)	Phenylephrine	Phényléphrine	Fenilefrina
Phenylpropanolamini hydrochloridum	(0683)	Phenylpropanolamine hydrochloride	Phénylpropanolamine (chlorhydrate de)	Fenilpropanolamina cloridrato
Phenytinum	(1253)	Phenytin	Phénytoïne	Fenitoina
Phenytinum natricum	(0521)	Phenytin sodium	Phénytoïne sodique	Fenitoina sodica
Phthalylsulfathiazolum	(0352)	Phthalylsulfathiazole	Phthalylsulfathiazol	Ftalilsulfatiazolo
Physostigmini salicylas/Eserini salicylas	(0286)	Physostigmine salicylate	Ésérine (salicylate d')	Fisostigmina salicilato (Eserina salicilato)
Physostigmini sulfas/Eserini sulfas	(0684)	Physostigmine sulphate	Ésérine (sulfate d')	Fisostigmina solfato (Eserina solfato)
Phytosterolum	(1911)	Phytosterol	Phytostérol	Fitosterolo
Pilocarpini hydrochloridum	(0633)	Pilocarpine hydrochloride	Pilocarpine (chlorhydrate de)	Pilocarpina cloridrato
Pilocarpini nitras	(0104)	Pilocarpine nitrate	Pilocarpine (nitrate de)	Pilocarpina nitrato
Pimozidum	(1254)	Pimozide	Pimozide	Pimozide
Pindololum	(0634)	Pindolol	Pindolol	Pindololo
Piperacillinum	(1169)	Piperacillin	Pipéracilline	Piperacillina
Piperacillinum natricum	(1168)	Piperacillin sodium	Pipéracilline sodique	Piperacillina sodica
Piperazini adipas	(0423)	Piperazine adipate	Pipérazine (adipate de)	Piperazina adipato
Piperazini citras	(0424)	Piperazine citrate	Pipérazine (citrate de)	Piperazina citrato
Piracetamum	(1733)	Piracetam	Piracétam	Piracetam
Piretanidum	(1556)	Piretanide	Pirétanide	Piretanide
Piroxicamum	(0944)	Piroxicam	Piroxicam	Piroxicam
Pivampicillinum	(0852)	Pivampicillin	Pivampicilline	Pivampicillina
Pivmecillinami hydrochloridum	(1359)	Pivmecillinam hydrochloride	Pivmécillinam (chlorhydrate de)	Pivmecillina cloridrato
Plantaginis ovatae semen	(1333)	Ispaghula seed	Ispaghul (graine d')	Ispagula seme
Plantaginis ovatae seminis tegumentum	(1334)	Ispaghula husk	Ispaghul (graine d'), tégument de la	Ispagula tegumento
Poly(alcohol vinylicus)	(1961)	Poly(vinyl alcohol)	Poli(alcool vinylique)	Polivinile alcool
Poly(vinylis acetatas)	(1962)	Poly(vinyl acetate)	Poly(acétate de vinyle)	Polivinile acetato
Poly(vinylis acetatas) dispersio 30 per centum	(2152)	Poly(vinyl acetate) dispersion 30 per cent	Poly(acétate de vinyle) (dispersion de) à 30 pour cent	Polivinile acetato dispersione 30 per cento
Polyacrylatis dispersio 30 per centum	(0733)	Polyacrylate dispersion 30 per cent	Polyacrylate (dispersion de) à 30 pour cent	Poliacrilato dispersione 30 per cento
Polygoni avicularis herba	(1885)	Knotgrass	Renouée des oiseaux	Corregiola
Povidonum iodatum	(1142)	Povidone, iodinated	Povidone iodée	Povidone-iodio
Pravastatinum natricum	(2059)	Pravastatin sodium	Pravastatine sodique	Pravastatina sodica
Prazepamum	(1466)	Prazepam	Prazépam	Prazepam
Prazosini hydrochloridum	(0856)	Prazosin hydrochloride	Prazosine (chlorhydrate de)	Prazosina cloridrato
Prednicarbatum	(1467)	Prednicarbate	Prednicarbate	Prednicarbato
Prednisoloni acetatas	(0734)	Prednisolone acetate	Prednisolone (acétate de)	Prednisolone acetato
Prednisoloni pivalas	(0736)	Prednisolone pivalate	Prednisolone (pivalate de)	Prednisolone pivalato
Prednisolonum	(0353)	Prednisolone	Prednisolone	Prednisolone
Prednisonum	(0354)	Prednisone	Prednisone	Prednisone
Prilocaini hydrochloridum	(1363)	Prilocaine hydrochloride	Priloçaïne (chlorhydrate de)	Prilocaina cloridrato
Primaquini diphosphas	(0635)	Primaquine diphosphate	Primaquine (diphosphate de)	Primachina difosfato
Primidonum	(0584)	Primidone	Primidone	Primidone

Primulae radix	(1364)	Primula root	Primevère (racine de)	Primula radice (Primavera, Primula odorosa)
Probenecidum	(0243)	Probenecid	Probénéécide	Probenecid
Procainamidi hydrochloridum	(0567)	Procainamide hydrochloride	Procaïnamide (chlorhydrate de)	Procainamide cloridrato
Procaini hydrochloridum	(0050)	Procaine hydrochloride	Procaïne (chlorhydrate de)	Procaina cloridrato
Prochlorperazini maleas	(0244)	Prochlorperazine maleate	Prochlorpérazine (maléate de)	Proclorperazina maleato
Progesteronum	(0429)	Progesterone	Progestérone	Progesterone
Proguanili hydrochloridum	(2002)	Proguanil hydrochloride	Proguanil (chlorhydrate de)	Proguanile cloridrato
Prolinum	(0785)	Proline	Proline	Prolina
Promazini hydrochloridum	(1365)	Promazine hydrochloride	Promazine (chlorhydrate de)	Promazina cloridrato
Propacetamoli hydrochloridum	(1366)	Propacetamol hydrochloride	Propacétamol (chlorhydrate de)	Propacetamolo cloridrato
Propafenoni hydrochloridum	(2103)	Propafenone hydrochloride	Propafénone (chlorhydrate de)	Propafenone cloridrato
Propanthelini bromidum	(0857)	Propantheline bromide	Propanthéline (bromure de)	Propantelina bromuro
Propranololi hydrochloridum	(0568)	Propranolol hydrochloride	Propranolol (chlorhydrate de)	Propranololo cloridrato
Propylis gallas	(1039)	Propyl gallate	Propyle (gallate de)	Propile gallato
Propylis parahydroxybenzoas	(0431)	Propyl parahydroxybenzoate	Propyle (parahydroxybenzoate de)	Propile paraidrossibenzoato
Propylis parahydroxybenzoas natricus	(1263)	Sodium propyl parahydroxybenzoate	Propyle (parahydroxybenzoate de) sodique	Propile paraidrossibenzoato sodico
Propylthiouracilum	(0525)	Propylthiouracil	Propylthiouracile	Propiltiouracile
Protamini hydrochloridum	(0686)	Protamine hydrochloride	Protamine (chlorhydrate de)	Protamina cloridrato
Protamini sulfas	(0569)	Protamine sulphate	Protamine (sulfate de)	Protamina solfato
Proxiphyllum	(0526)	Proxiphylline	Proxiphylline	Proxifillina
Pruni africanæ cortex	(1886)	Pygeum africanum bark	Prunier d'Afrique (écorce de)	Pruno africano corteccia
Pseudoephedrini hydrochloridum	(1367)	Pseudoephedrine hydrochloride	Pseudoéphédrine (chlorhydrate de)	Pseudoefedrina cloridrato
Psyllii semen	(0858)	Psyllium seed	Psyllium (graine de)	Psillio seme
Pyranteli embonas	(1680)	Pyrantel embonate	Pyrantel (embonate de)	Pirantele embonato
Pyrazinamidum	(0859)	Pyrazinamide	Pyrazinamide	Pirazinamide
Pyridostigmini bromidum	(1255)	Pyridostigmine bromide	Pyridostigmine (bromure de)	Piridostigmina bromuro
Pyridoxini hydrochloridum	(0245)	Pyridoxine hydrochloride	Pyridoxine (chlorhydrate de)	Piridoxina cloridrato
Pyrimethaminum	(0288)	Pyrimethamine	Pyriméthamine	Pirimetamina
Quercus cortex	(1887)	Oak bark	Chêne (écorce de)	Quercia corteccia
Ramiprilum	(1368)	Ramipril	Ramipril	Ramipril
Ratanhiae radix	(0289)	Rhatany root	Ratanhia (racine de)	Ratania radice
Repaglinidum	(2135)	Repaglinide	Répaglinide	Repaglinide
Rhamni purshianæ cortex	(0105)	Cascara	Cascara	Cascara
Rhei radix	(0291)	Rhubarb	Rhubarbe	Rabarbaro
Ribavirinum	(2109)	Ribavirin	Ribavirine	Ribavirina
Riboflavini natrii phosphas	(0786)	Riboflavin sodium phosphate	Riboflavine (phosphate sodique de)	Riboflavina sodio fosfato
Rifabutinum	(1657)	Rifabutin	Rifabutine	Rifabutina
Risperidonum	(1559)	Risperidone	Rispéridone	Risperidone
Rosae pseudo-fructus	(1510)	Dog rose	Cynorrhodon	Rosa canina
Roxithromycinum	(1146)	Roxithromycin	Roxithromycine	Roxitromicina
Rusci rhizoma	(1847)	Butcher's broom	Petit houx	Rusco rizoma (Pungitopo)
Sabal serrulatae fructus	(1848)	Saw palmetto fruit	Sabal (fruit de)	Sabal frutto (Serenoa repens)
Sacchari sphaerae	(1570)	Sugar spheres	Sphères de sucre	Zuccherò sfere
Saccharum	(0204)	Sucrose	Saccharose	Saccarosio
Salbutamoli sulfas	(0687)	Salbutamol sulphate	Salbutamol (sulfate de)	Salbutamolo solfato
Salbutamololum	(0529)	Salbutamol	Salbutamol	Salbutamolo

Salicis cortex	(1583)	Willow bark	Saule (écorce de)	Salice corteccia
Sambuci flos	(1217)	Elder flower	Sureau (fleur de)	Sambuco fiore
Sennae folium	(0206)	Senna leaf	Séné (feuille de)	Senna foglia
Sennae fructus acutifoliae	(0207)	Senna pods, Alexandrian	Séné de Khartoum ou d'Alexandrie (fruit de)	Senna Alessandrina frutto
Sennae fructus angustifoliae	(0208)	Senna pods, Tinnevelly	Séné de l'Inde ou de Tinnevelly (fruit de)	Senna Tinnevelly frutto
Serinum	(0788)	Serine	Sérine	Serina
Serpylli herba	(1891)	Wild thyme	Serpolet	Timo serpillo
Silica ad usum dentalem	(1562)	Silica, dental type	Silice pour usage dentaire	Silice per uso dentale
Silica colloidalis anhydrica	(0434)	Silica, colloidal anhydrous	Silice colloïdale anhydre	Silice colloïdale anidra
Silica colloidalis hydrica	(0738)	Silica, colloidal hydrated	Silice colloïdale hydratée	Silice colloïdale idrata
Silica hydrophobica colloidalis	(2208)	Silica, hydrophobic colloidal	Silice hydrophobe colloïdale	Silice idrofobica, colloïdale
Silybi mariani fructus	(1860)	Milk-thistle fruit	Chardon marie	Cardo mariano frutto
Soiae oleum hydrogenatum	(1265)	Soya-bean oil, hydrogenated	Soja (huile de) hydrogénée	Olio di semi di soia idrogenato
Solani amyllum	(0355)	Potato starch	Amidon de pomme de terre	Amido di patata
Solidaginis herba	(1892)	Goldenrod	Solidage	Verga d'oro
Solidaginis virgaureae herba	(1893)	Goldenrod, european	Solidage verge d'or	Verga d'oro europea
Sotaloli hydrochloridum	(2004)	Sotalol hydrochloride	Sotalol (chlorhydrate de)	Sotalolo cloridrato
Spironolactonum	(0688)	Spironolactone	Spironolactone	Spironolattone
Stannosi chloridum dihydricum	(1266)	Stannous chloride dihydrate	Chlorure stanneux dihydraté	Stannoso cloruro diidrato
Stramonii folium	(0246)	Stramonium leaf	Stramoine (feuille de)	Stramonio foglia
Stramonii pulvis normatus	(0247)	Stramonium, prepared	Stramoine (poudre titrée de)	Stramonio polvere titolata
Succinylsulfathiazolum	(0357)	Succinylsulfathiazole	Succinylsulfathiazol	Succinilsulfatiazolo
Sulfadiazinum	(0294)	Sulfadiazine	Sulfadiazine	Sulfadiazina
Sulfadimidinum	(0295)	Sulfadimidine	Sulfadimidine	Sulfadimidina
Sulfadoxinum	(0740)	Sulfadoxine	Sulfadoxine	Sulfadoxina
Sulfafurazolum	(0741)	Sulfafurazole	Sulfafurazol	Sulfafurazolo
Sulfaguanidinum	(1476)	Sulfaguanidine	Sulfaguanidine	Sulfaguanidina
Sulfamerazinum	(0358)	Sulfamerazine	Sulfamérazine	Sulfamerazina
Sulfamethizolum	(0637)	Sulfamethizole	Sulfaméthizol	Sulfametizolo
Sulfamethoxazolum	(0108)	Sulfamethoxazole	Sulfaméthoxazole	Sulfametoxazolo
Sulfamethoxypridazinum ad usum veterinarium	(0638)	Sulfamethoxypridazine for veterinary use	Sulfaméthoxypridazine pour usage vétérinaire	Sulfametossipridazina per uso veterinario
Sulfanilamidum	(1571)	Sulfanilamide	Sulfanilamide	Sulfanilamide
Sulfasalazinum	(0863)	Sulfasalazine	Sulfasalazine	Sulfasalazina
Sulfathiazolum	(0742)	Sulfathiazole	Sulfathiazol	Sulfatiazolo
Sulfinpyrazonum	(0790)	Sulfinpyrazone	Sulfinpyrazone	Sulfinpirazone
Sulfisomidinum	(0639)	Sulfisomidine	Sulfisomidine	Sulfisomidina
Sulindacum	(0864)	Sulindac	Sulindac	Sulindac
Sulpiridum	(1045)	Sulpiride	Sulpiride	Sulpiride
Suxibuzonum	(1574)	Suxibuzone	Suxibuzone	Suxibuzone
Talcum	(0438)	Talc	Talc	Talco
Tanacetii parthenii herba	(1516)	Feverfew	Camomille (grande)	Tanaceto (Matricale)
Tanninum	(1477)	Tannic acid	Tannique (acide)	Acido tannico
Temazepamum	(0954)	Temazepam	Témazépam	Temazepam
Terbinafini hydrochloridum	(1734)	Terbinafine hydrochloride	Terbinafine (chlorhydrate de)	Terbinafina cloridrato
Terbutalini sulfas	(0690)	Terbutaline sulphate	Terbutaline (sulfate de)	Terbutalina solfato
Terconazolum	(1270)	Terconazole	Terconazole	Terconazolo
Terfenadinum	(0955)	Terfenadine	Terfénadine	Terfenadina
Testosteroni propionas	(0297)	Testosterone propionate	Testostérone (propionate de)	Testosterone propionato
Testosteronum	(1373)	Testosterone	Testostérone	Testosterone
Tetracaini hydrochloridum	(0057)	Tetracaine hydrochloride	Tétracaïne (chlorhydrate de)	Tetracaina cloridrato

Tetracyclini hydrochloridum	(0210)	Tetracycline hydrochloride	Tétracycline (chlorhydrate de)	Tetraciclina cloridrato
Tetracyclinum	(0211)	Tetracycline	Tétracycline	Tetraciclina
Tetrazepamum	(1738)	Tetrazepam	Tétrazépam	Tetrazepam
Tetryzolini hydrochloridum	(2101)	Tetryzoline hydrochloride	Tétryzoline (chlorhydrate de)	Tetrizolina cloridrato
Theobrominum	(0298)	Theobromine	Théobromine	Teobromina
Theophyllinum	(0299)	Theophylline	Théophylline	Teofillina
Theophyllinum monohydricum	(0302)	Theophylline monohydrate	Théophylline monohydratée	Teofillina monoidrata
Thiamazolum	(1706)	Thiamazole	Thiamazol	Tiamazolo
Thiamini nitras	(0531)	Thiamine nitrate	Thiamine (nitrate de)	Tiamina nitrato
Thiamphenicolum	(0109)	Thiamphenicol	Thiamphénicol	Tiamfenicolo
Thioridazini hydrochloridum	(0586)	Thioridazine hydrochloride	Thioridazine (chlorhydrate de)	Tioridazina cloridrato
Threoninum	(1049)	Threonine	Thréonine	Treonina
Tiamulini hydrogenofumaras ad usum veterinarium	(1659)	Tiamulin hydrogen fumarate for veterinary use	Tiamuline (hydrogénofumarate de) pour usage vétérinaire	Tiamulin idrogenofumarato per uso veterinario
Tiamulinum ad usum veterinarium	(1660)	Tiamulin for veterinary use	Tiamuline pour usage vétérinaire	Tiamulin per uso veterinario
Tiapridi hydrochloridum	(1575)	Tiapride hydrochloride	Tiapride (chlorhydrate de)	Tiapride cloridrato
Tibolonum	(1739)	Tibolone	Tibolone	Tibolone
Ticarcillinum natricum	(0956)	Ticarcillin sodium	Ticarcilline sodique	Ticarcillina sodica
Tiliae flos	(0957)	Lime flower	Tilleul (fleur de)	Tiglio fiore
Timololi maleas	(0572)	Timolol maleate	Timolol (maléate de)	Timololo maleato
Tinidazolum	(1051)	Tinidazole	Tinidazole	Tinidazolo
Tolbutamidum	(0304)	Tolbutamide	Tolbutamide	Tolbutamide
Torasemidum anhydricum	(2132)	Torasemide, anhydrous	Torasémide anhydre	Torasemide anidra
Tormentillae rhizoma	(1478)	Tormentil	Tormentille	Tormentilla
Tosylchloramidum natricum	(0381)	Tosylchloramide sodium	Tosylchloramide sodique	Tosilcloramide sodica
Tramadoli hydrochloridum	(1681)	Tramadol hydrochloride	Tramadol (chlorhydrate de)	Tramadolo cloridrato
Tretinoinum	(0693)	Tretinoin	Trétinoïne	Tretinoina
Triacetinum	(1106)	Triacetin	Triacétine	Triacetina
Triamterenum	(0058)	Triamterene	Triamtérene	Triamterene
Tricalcii phosphas	(1052)	Calcium phosphate	Phosphate tricalcique	Calcio fosfato
Trifluoperazini hydrochloridum	(0059)	Trifluoperazine hydrochloride	Trifluopérazine (chlorhydrate de)	Trifluoperazina cloridrato
Trigonellae foenugraeci semen	(1323)	Fenugreek	Fenugrec	Fieno greco
Trihexyphenidyl hydrochloridum	(1626)	Trihexyphenidyl hydrochloride	Trihexyphénidyle (chlorhydrate de)	Triesifenidile cloridrato
Trimetazidini dihydrochloridum	(1741)	Trimetazidine dihydrochloride	Trimétazidine (dichlorhydrate de)	Trimetazidina dicloridrato
Trimethoprimum	(0060)	Trimethoprim	Triméthoprime	Trimetoprim
Tritici amyllum	(0359)	Wheat starch	Amidon de blé	Amido di frumento
Trometamolom	(1053)	Trometamol	Trométamol	Trometamolo
Tropisetron hydrochloridum	(2102)	Tropisetron hydrochloride	Tropisétron (chlorhydrate de)	Tropisetrone cloridrato
Trospii chloridum	(1798)	Trospium chloride	Trospium (chlorure de)	Trospio cloruro
Troxerutinum	(2133)	Troxerutin	Troxérutine	Troxerutina
Tryptophanum	(1272)	Tryptophan	Tryptophane	Triptofano
Tyrosinum	(1161)	Tyrosine	Tyrosine	Tirosina
Ubidecarenonum	(1578)	Ubidecarenone	Ubidécarénone	Ubidecarenone
Ureum	(0743)	Urea	Urée	Urea
Urticae folium	(1897)	Nettle leaf	Ortie (feuille de)	Ortica foglia
Uvae ursi folium	(1054)	Bearberry leaf	Busserole (feuille de)	Uva ursina foglia
Valerianae radix	(0453)	Valerian root	Valériane (racine de)	Valeriana radice
Valinum	(0796)	Valine	Valine	Valina

Vancomycini hydrochloridum	(1058)	Vancomycin hydrochloride	Vancomycine (chlorhydrate de)	Vancomicina cloridrato
Verapamili hydrochloridum	(0573)	Verapamil hydrochloride	Vérápamil (chlorhydrate de)	Verapamil cloridrato
Verbasci flos	(1853)	Mullein flower	Bouillon blanc (fleur de)	Verbascio fiore
Verbenae citriodoratae folium	(1834)	Lemon verbena leaf	Verveine odorante (feuille de)	Verbena odorosa foglia
Verbenae herba	(1854)	Verbena herb	Verveine officinale	Verbena officinale
Vinorelbini tartras	(2107)	Vinorelbine tartrate	Vinorelbine (tartrate de)	Vinorelbina tartrato
Violae herba cum flore	(1855)	Wild pansy (flowering aerial parts)	Pensée sauvage (parties aériennes fleuries de)	Viola del pensiero parti aeree fiorite
Xanthani gummi	(1277)	Xanthan gum	Gomme xanthane	Gomma xantana
Xylazini hydrochloridum ad usum veterinarium	(1481)	Xylazine hydrochloride for veterinary use	Xylazine (chlorhydrate de) pour usage vétérinaire	Xilazina cloridrato per uso veterinario
Xylometazolini hydrochloridum	(1162)	Xylometazoline hydrochloride	Xylométagoline (chlorhydrate de)	Xilometazolina cloridrato
Xylosum	(1278)	Xylose	Xylose	Xilosio
Zidovudinum	(1059)	Zidovudine	Zidovudine	Zidovudina
Zinci acetat dihydricus	(1482)	Zinc acetate dihydrate	Zinc (acétate de) dihydraté	Zinco acetato diidrato
Zinci acexamas	(1279)	Zinc acexamate	Zinc (acéxamate de)	Zinco acexamato
Zinci chloridum	(0110)	Zinc chloride	Zinc (chlorure de)	Zinco cloruro
Zinci oxidum	(0252)	Zinc oxide	Zinc (oxyde de)	Zinco ossido
Zinci stearas	(0306)	Zinc stearate	Zinc (stéarate de)	Zinco stearato
Zinci sulfas heptahydricus	(0111)	Zinc sulphate heptahydrate	Zinc (sulfate de) heptahydraté	Zinco solfato eptaidrato
Zinci sulfas hexahydricus	(1683)	Zinc sulphate hexahydrate	Zinc (sulfate de) hexahydraté	Zinco solfato esaidrato
Zinci undecylenas	(0539)	Zinc undecylenate	Zinc (undécylénate de)	Zinco undecilenato

TESTI IL CUI TITOLO È STATO MODIFICATO NELLA 6[^] EDIZIONE

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.8.12	Determination of essential oils in herbal drugs <i>previously</i> Determination of essential oils in vegetable drugs	<i>inchangé</i>	<i>invariato</i>
3.2.2.1.	Plastic containers for aqueous solutions for infusion <i>previously</i> Plastic containers for aqueous solutions for parenteral infusion	Réipients en matière plastique destinés au conditionnement des solutions aqueuses pour perfusion <i>en remplacement de</i> Réipients en matière plastique destinés au conditionnement des solutions aqueuses pour perfusion parentérale	Contentitori in plastica per soluzioni acquose per infusione <i>in sostituzione di</i> Contentitori in plastica per soluzioni acquose per infusione parenterale
5.2.1.	Terminology used in monographs on biological products <i>previously</i> Terminology used in monographs on vaccines	Terminologie utilisée dans les monographies sur les produits biologiques <i>en remplacement de</i> Terminologie utilisée dans les monographies sur les vaccins	Terminologia usata nelle monografie dei prodotti biologici <i>in sostituzione di</i> Terminologia usata nelle monografie dei vaccini

MONOGRAFIE

VACCINI PER USO VETERINARIO

n.	Inglese	Francese	Italiano
(0745)	Aujeszky's disease vaccine (live) for pigs for parenteral	Vaccin vivant de la maladie d'Aujeszky pour le porc pour	Vaccino vivo della malattia di Aujeszky per il suino per uso

	administration <i>previously</i> Aujeszky's disease vaccine (live) for pigs for parenteral administration, freeze-dried	administration parentérale <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché de la maladie d'Aujeszky pour le porc pour administration parentérale	parenterale <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato della malattia di Aujeszky per il suino per uso parenterale
(1176)	Bovine parainfluenza virus vaccine (live) <i>previously</i> Bovine parainfluenza virus vaccine (live), freeze-dried	Vaccin vivant du virus parainfluenza bovine <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché du virus parainfluenza bovine	Vaccino vivo del virus della parainfluenza bovina <i>In sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato del virus della parainfluenza bovina
(1177)	Bovine respiratory syncytial virus vaccine (live) <i>previously</i> Bovine respiratory syncytial virus vaccine (live), freeze-dried	Vaccin vivant du virus syncytial respiratoire bovin <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché du virus syncytial respiratoire bovin	Vaccino vivo del virus sinciziale respiratorio bovino <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato del virus sinciziale respiratorio bovino
(0793)	Brucellosis vaccine (live) (Brucella melitensis rev. 1 strain), for veterinary use <i>previously</i> Brucellosis vaccine (live) (Brucella melitensis rev. 1 strain), freeze-dried, for veterinary use	Vaccin vivant de la brucellose (Brucella melitensis souche rev. 1) pour usage vétérinaire <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché de la brucellose (Brucella melitensis souche rev. 1) pour usage vétérinaire	Vaccino vivo della brucellosi (Brucella melitensis ceppo rev. 1) per uso veterinario <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato della brucellosi (Brucella melitensis ceppo rev. 1) per uso veterinario
(0448)	Canine distemper vaccine (live) <i>previously</i> Canine distemper vaccine (live), freeze-dried	Vaccin vivant de la maladie de Carré pour le chien <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché de la maladie de Carré pour le chien	Vaccino vivo del cimurro per il cane <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato del cimurro per il cane
(0449)	Distemper vaccine (live) for mustelids <i>previously</i> Distemper vaccine (live) for mustelids, freeze-dried	Vaccin vivant de la maladie de Carré pour mustélidés <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché de la maladie de Carré pour mustélidés	Vaccino vivo del cimurro per mustelidi <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato del cimurro per mustelidi
(1102)	Feline calicivirosis vaccine (live) <i>previously</i> Feline calicivirosis vaccine (live), freeze-dried	Vaccin vivant de la calicivirose du chat <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché de la calicivirose du chat	Vaccino vivo dell'infezione da calicivirus del gatto <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato dell'infezione da calicivirus del gatto
(0696)	Infectious bovine rhinotracheitis vaccine (live) <i>previously</i> Infectious bovine rhinotracheitis vaccine (live), freeze-dried	Vaccin vivant de la rhinotrachéite infectieuse bovine <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché de la rhinotrachéite infectieuse bovine	Vaccino vivo della rino- tracheite infettiva bovina <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato della rino-tracheite infettiva bovina
n.	Inglese	MONOGRAFIE Francese	Italiano
(1842)	Pine sylvestris oil <i>previously</i> Pine silvestris oil	<i>inchangé</i>	<i>invariato</i>
(2208)	Silica, hydrophobic colloidal	Silice hydrophobe colloïdale	Silice idrofobica, colloidale

	<i>previously</i> Silica, hydrophobic colloidal anhydrous	<i>en remplacement de</i> Silice hydrophobe colloïdale anhydre	<i>in sostituzione di</i> Silice idrofobica, colloidale, anidra
(2340)	<i>unchanged</i>	Sulfate ferreux desséché <i>en remplacement de</i> Ferreux sulfate desséché	<i>invariato</i>

TESTI ELIMINATI NELLA 6^EDIZIONE

I testi riportati di seguito sono eliminati dalla Farmacopea Europea a partire dal 1 gennaio 2008

CAPITOLI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.9.24.	Resistance to rupture of suppositories and pessaries	Résistance à la rupture des suppositoires et des ovules	Resistenza alla rottura di supposte e ovuli
2.9.28.	Test for delivered mass or volume of liquid and semi-solid preparations	Essai de la masse ou du volume délivrable pour les préparations liquides et semi-solides	Saggio per la massa o il volume rilasciato dalle preparazioni liquide e semi-solide

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acriflavini monochloridum	(2043)	Acriflavinium monochloride	Acriflavinium (monochlorure d')	Acriflavinio monoclورو

ERRATA CORRIGE

Nelle monografie riportate di seguito, dopo la sezione "Altre impurezze rivelabili" leggere:

«le sostanze riportate di seguito, se presenti in un contenuto sufficiente, devono essere rivelate mediante uno o più saggi della monografia. Esse sono limitate dal criterio di accettazione generale applicabile alle altre impurezze o alle impurezze non specificate e/o dalle disposizioni della monografia generale *Sostanze per uso farmaceutico (2034)*. Non è dunque necessario identificarle per dimostrare la conformità della sostanza. Vedere anche il capitolo 5.10. *Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico*».

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acidum tranexamicum	(0875)	Tranexamic acid	Tranexamique (acide)	Acido tranexamico
Articaini hydrochloridum	(1688)	Articaine hydrochloride	Articaïne (chlorhydrate de)	Articaina cloridrato
Biperideni hydrochloridum	(1074)	Biperiden hydrochloride	Bipéridène (chlorhydrate de)	Biperidene cloridrato
Coffeinum	(0267)	Caffeine	Caféine	Caffeina
Coffeinum monohydricum	(0268)	Caffeine monohydrate	Caféine monohydratée	Caffeina monoidrata
Ibuprofenum	(0721)	Ibuprofen	Ibuprofène	Ibuprofene
Ifosfamidum	(1529)	Ifosfamide	Ifosfamide	Ifosfamide
Kalii clavulanas	(1140)	Potassium clavulanate	Potassium (clavulanate de)	Potassio clavulanato
Kalii clavulanas dilutus	(1653)	Potassium clavulanate, diluted	Potassium (clavulanate de) dilué	Potassio clavulanato diluito
Metformini hydrochloridum	(0931)	Metformin hydrochloride	Metformine (chlorhydrate de)	Metformina cloridrato
Naphazolini hydrochloridum	(0730)	Naphazoline hydrochloride	Naphazoline (chlorhydrate de)	Nafazolina cloridrato
Norethisteroni acetatas	(0850)	Norethisterone acetate	Noréthistérone (acétate de)	Noretisterone acetato
Oxaliplatinum	(2017)	Oxaliplatin	Oxaliplatine	Oxaliplatino
Testosteroni propionas	(0297)	Testosterone propionate	Testostérone (propionate de)	Testosterone propionato
Thiamini hydrochloridum	(0303)	Thiamine hydrochloride	Thiamine (chlorhydrate de)	Tiamina cloridrato
Thiamini nitras	(0531)	Thiamine nitrate	Thiamine (nitrate de)	Tiamina nitrato

FARMACOPEA EUROPEA 6[^] EDIZIONE

CONTENUTO VOLUME I

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
I.	Preface	Préface	Prefazione
II.	Introduction	Introduction	Introduzione
III.	European Pharmacopoeia Commission	La Commission Européenne de pharmacopée	Commissione della Farmacopea Europea
IV.	Contents of the 6 th Edition	Contenu de la 6 ^{ème} Edition	Contenuto della 6 [^] edizione
1.	General Notices	Prescriptions Générales	Prescrizioni Generali
1.1.	General statements	Généralités	Prescrizioni generali
1.2.	Other provisions applying to general chapters and monographs	Autres dispositions s'appliquant aux monographies et aux chapitres généraux	Altre disposizioni relative ai capitoli generali e alle monografie
1.3.	General chapters	Chapitres généraux	Capitoli generali
1.4.	Monographs	Monographies	Monografie
1.5.	Abbreviations and symbols	Abréviations et symboles	Abbreviazioni e simboli
1.6.	Units of the International System (SI) used in the Pharmacopoeia and equivalence with other units	Unités du système international (SI) utilisées dans la Pharmacopée et correspondance avec d'autres unités	Unità del Sistema Internazionale (SI) utilizzate nella Farmacopea e corrispondenza con altre unità
2.	Methods of analysis	Méthodes analytiques	Metodi di analisi
2.1.	Apparatus	Appareils	Apparecchiature
2.1.1.	Droppers	Compte-gouttes	Contagocce
2.1.2.	Comparative table of porosity of sintered-glass filters	Tableau de comparaison des filtres de verre fritté	Tabella comparativa della porosità dei filtri a setto poroso
2.1.3.	Ultraviolet ray lamps for analytical purposes	Lampes à rayonnement ultraviolet pour analyses	Lampade a luce ultravioletta per scopi analitici
2.1.4.	Sieves	Tamis	Setacci
2.1.5.	Tubes for comparative tests	Tubes pour essais comparatifs	Tubi per saggi comparativi
2.1.6.	Gas detector tubes	Tubes détecteurs de gaz	Tubi per la determinazione di gas
2.2.	Physical and physicochemical methods	Méthodes physiques et physico-chimiques	Metodi fisici e fisico-chimici
2.2.1.	Clarity and degree of opalescence of liquids	Limpidité et degré d'opalescence des liquides	Limpidezza e grado di opalescenza dei liquidi
2.2.2.	Degree of coloration of liquids	Dégré de coloration des liquides	Grado di colorazione dei liquidi
2.2.3.	Potentiometric determination of pH	Détermination potentiométrique du pH	Determinazione potenziometrica del pH
2.2.4.	Relationship between reaction of solution, approximate pH and colour of certain indicators	Correspondance entre la réaction du milieu, le pH approximatif et la coloration de quelques indicateurs	Correlazione tra reazione della soluzione, pH approssimato e colorazione di alcuni indicatori
2.2.5.	Relative density	Densité	Densità relativa
2.2.6.	Refractive index	Indice de réfraction	Indice di rifrazione
2.2.7.	Optical rotation	Pouvoir rotatoire	Potere rotatorio
2.2.8.	Viscosity	Viscosité	Viscosità
2.2.9.	Capillary viscometer method	Viscosité - méthode au tube capillaire	Metodo del viscosimetro a capillare
2.2.10.	Viscosity - Rotating viscometer method	Viscosité - méthode du viscosimètre rotatif	Viscosità - Metodo del viscosimetro a corpo rotante
2.2.11.	Distillation range	Intervalle de distillation	Intervallo di distillazione
2.2.12.	Boiling point	Point d'ébullition	Punto di ebollizione
2.2.13.	Determination of water by distillation	Détermination de l'eau par entraînement	Determinazione dell'acqua per distillazione
2.2.14.	Melting point - capillary method	Point de fusion - méthode au tube capillaire	Punto di fusione - metodo al capillare

2.2.15.	Melting point - open capillary method	Point de fusion - méthode au tube capillaire ouvert	Punto di fusione – metodo al capillare aperto
2.2.16.	Melting point - instantaneous method	Point de fusion - méthode de la fusion instantanée	Punto di fusione – metodo della fusione istantanea
2.2.17.	Drop point	Point de goutte	Punto di gocciolamento
2.2.18.	Freezing point	Point de solidification	Punto di solidificazione
2.2.19.	Amperometric titration	Titration ampérométrique	Titolazione amperometrica
2.2.20.	Potentiometric titration	Titration potentiométrique	Titolazione potenziometrica
2.2.21.	Fluorimetry	Fluorimétrie	Fluorimetria
2.2.22.	Atomic emission spectrometry	Spectrométrie d'émission atomique	Spettrometria di emissione atomica
2.2.23.	Atomic absorption spectrometry	Spectrométrie d'absorption atomique	Spettrometria di assorbimento atomico
2.2.24.	Absorption spectrophotometry, infrared	Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge	Spettrofotometria di assorbimento nell'infrarosso
2.2.25.	Absorption spectrophotometry, ultraviolet and visible	Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible	Spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto e nel visibile
2.2.26.	Paper chromatography	Chromatographie sur papier	Cromatografia su carta
2.2.27.	Thin-layer chromatography	Chromatographie sur couche mince	Cromatografia su strato sottile
2.2.28.	Gas chromatography	Chromatographie en phase gazeuse	Gas cromatografia
2.2.29.	Liquid chromatography	Chromatographie liquide	Cromatografia liquida
2.2.30.	Size-exclusion chromatography	Chromatographie d'exclusion	Cromatografia per esclusione
2.2.31.	Electrophoresis	Électrophorèse	Elettroforesi
2.2.32.	Loss on drying	Perte à la dessiccation	Perdita all'essiccamento
2.2.33.	Nuclear magnetic resonance spectrometry	Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire	Spettrometria di risonanza magnetica nucleare
2.2.34.	Thermal analysis	Analyse thermique	Analisi termica
2.2.35.	Osmolality	Osmolalité	Osmolalità
2.2.36.	Potentiometric determination of ionic concentration using ion-selective electrodes	Détermination potentiométrique de la concentration ionique à l'aide d'électrodes à membrane sélective	Determinazione potenziometrica della concentrazione ionica utilizzando elettrodi ione-selettivi
2.2.37.	X-Ray fluorescence spectrometry	Spectrométrie de fluorescence-X	Spettrometria di fluorescenza a Raggi-X
2.2.38.	Conductivity	Conductivité	Conduttività
2.2.39.	Molecular mass distribution in dextrans	Distribution de la masse moléculaire des dextrans	Distribuzione della massa molecolare nei destrani
2.2.40.	Near-infrared spectrophotometry	Spectrophotométrie dans le proche infrarouge	Spettrofotometria nel vicino infrarosso
2.2.41.	Circular dichroism	Dichroïsme circulaire	Dicroismo circolare
2.2.42.	Density of solids	Masse volumique d'un solide (improprement appelée densité d'un solide)	Densità dei solidi
2.2.43.	Mass spectrometry	Spectrométrie de masse	Spettrometria di massa
2.2.44.	Total organic carbon in water for pharmaceutical use	Carbone organique total dans l'eau pour usage pharmaceutique	Carbonio organico totale nell'acqua per uso farmaceutico
2.2.45.	Supercritical fluid chromatography	Chromatographie en phase supercritique	Cromatografia a fluido supercritico
2.2.46.	Chromatographic separation techniques	Techniques de séparation chromatographique	Tecniche di separazione cromatografica
2.2.47.	Capillary electrophoresis	Electrophorèse capillaire	Elettroforesi capillare
2.2.48.	Raman spectrometry	Spectrométrie Raman	Spettrometria Raman
2.2.49.	Falling ball viscometer method	Méthode du viscosimètre à chute de bille	Metodo del viscosimetro a sfera cadente
2.2.54.	Isoelectric focusing	Focalisation isoélectrique	Focalizzazione isoelettrica
2.2.55.	Peptide mapping	Cartographie peptidique	Mappa peptidica
2.2.56.	Amino acid analysis	Analyse des acides aminés	Analisi degli aminoacidi
2.2.57.	Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry	Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif	Spettroscopia di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente
2.2.58.	Inductively coupled plasma-mass spectrometry	Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif	Spettroscopia di massa a plasma accoppiato induttivamente
2.3.	Identification	Identification	Identificazione

2.3.1.	Identification reactions of ions and functional groups	Réactions d'identité des ions et des groupes fonctionnels	Reazioni di identificazione degli ioni e dei gruppi funzionali
2.3.2.	Identification of fatty oils by thin-layer chromatography	Identification des huiles grasses par chromatographie sur couche mince	Identificazione degli oli grassi mediante cromatografia su strato sottile
2.3.3.	Identification of phenothiazines by thin-layer chromatography	Identification des phénothiazines par chromatographie sur couche mince	Identificazione delle fenotiazine mediante cromatografia su strato sottile
2.3.4.	Odour	Odeur	Odore
2.4.	Limit tests	Essais limites des impuretés	Saggi limite
2.4.1.	Ammonium	Ammonium	Ammonio
2.4.2.	Arsenic	Arsenic	Arsenico
2.4.3.	Calcium	Calcium	Calcio
2.4.4.	Chlorides	Chlorures	Cloruri
2.4.5.	Fluorides	Fluorures	Fluoruri
2.4.6.	Magnesium	Magnésium	Magnesio
2.4.7.	Magnesium and alkaline-earth metals	Magnésium et métaux alcalino-terreux	Magnesio e metalli alcalino-terrosi
2.4.8.	Heavy metals	Métaux lourds	Metalli pesanti
2.4.9.	Iron	Fer	Ferro
2.4.10.	Lead in sugars	Plomb dans les sucres	Piombo negli zuccheri
2.4.11.	Phosphates	Phosphates	Fosfati
2.4.12.	Potassium	Potassium	Potassio
2.4.13.	Sulphates	Sulfates	Solfati
2.4.14.	Sulphated ash	Cendres sulfuriques	Ceneri solforiche
2.4.15.	Nickel in polyols	Nickel dans les polyols	Nichel nei polioli
2.4.16.	Total ash	Cendres totales	Ceneri totali
2.4.17.	Aluminium	Aluminium	Alluminio
2.4.18.	Free formaldehyde	Formaldéhyde libre	Formaldeide libera
2.4.19.	Alkaline impurities in fatty oils	Impuretés à réaction alcaline dans les huiles grasses	Impurezze alcaline negli oli grassi
2.4.21.	Foreign oils in fatty oils by thin-layer chromatography	Huiles étrangères dans les huiles grasses par chromatographie sur couche mince	Oli estranei negli oli grassi mediante cromatografia su strato sottile
2.4.22.	Composition of fatty acids by gas chromatography	Composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse	Composizione in acidi grassi mediante gas cromatografia
2.4.23.	Sterols in fatty oils	Stérols dans les huiles grasses	Steroli negli oli grassi
2.4.24.	Identification and control of residual solvents	Identification et contrôle des solvants résiduels	Identificazione e controllo dei solventi residui
2.4.25.	Ethylene oxide and dioxan	Oxyde d'éthylène et dioxane	Etilene ossido e diossano residui
2.4.26.	<i>N,N</i> -Dimethylaniline	<i>N,N</i> -Diméthylaniline	<i>N,N</i> -Dimetilnilina
2.4.27.	Heavy metals in herbal drugs and fatty oils	Métaux lourds dans les drogues végétales et dans les huiles grasses	Metalli pesanti nelle droghe vegetali e negli oli grassi
2.4.28.	2-Ethylhexanoic acid	Acide 2-éthylhexanoïque	Acido 2-etilanoico
2.4.29.	Composition of fatty acids in oils rich in omega-3 acids	Composition en acides gras des huiles riches en acides oméga-3	Composizione in acidi grassi degli oli ricchi di acidi grassi omega-3
2.4.30.	Ethylene glycol and diethylene glycol in ethoxylated substances	Ethylèneglycol et diéthylèneglycol dans les substances éthoxylées	Glicole etileno e glicole dietileno nelle sostanze etossilate
2.4.31.	Nickel in hydrogenated vegetable oils	Nickel dans les huiles végétales hydrogénées	Nichel negli oli vegetali idrogenati
2.4.32.	Total cholesterol in oils rich in omega-3 acids	Cholestérol total dans les huiles riches en acides oméga-3	Colesterolo totale negli oli ricchi di acidi grassi omega-3
2.5.	Assays	Méthodes de dosage	Saggi
2.5.1.	Acid value	Indice d'acide	Indice di acidità
2.5.2.	Ester value	Indice d'esters	Indice di esteri
2.5.3.	Hydroxyl value	Indice d'hydroxyle	Indice di ossidrilico
2.5.4.	Iodine value	Indice d'iode	Indice di iodio
2.5.5.	Peroxide value	Indice de peroxyde	Indice di perossidi
2.5.6.	Saponification value	Indice de saponification	Indice di saponificazione
2.5.7.	Unsaponifiable matter	Insaponifiable	Sostanze insaponificabili

2.5.8.	Determination of primary aromatic amino-nitrogen	Dosage de l'azote aminé primaire aromatique	Determinazione dell'azoto amminico primario aromatico
2.5.9.	Determination of nitrogen by sulphuric acid digestion	Dosage de l'azote après minéralisation par l'acide sulfurique	Determinazione dell'azoto dopo mineralizzazione con acido solforico
2.5.10.	Oxygen-flask method	Combustion dans l'oxygène	Combustione in ossigeno
2.5.11.	Complexometric titrations	Titrages complexométriques	Titolazioni complessometriche
2.5.12.	Water: semi-micro determination	Semi-microdosage de l'eau	Semi-micro determinazione dell'acqua
2.5.13.	Aluminium in adsorbed vaccines	Aluminium dans les vaccins adsorbés	Alluminio nei vaccini adsorbiti
2.5.14.	Calcium in adsorbed vaccines	Calcium dans les vaccins adsorbés	Calcio nei vaccini adsorbiti
2.5.15.	Phenol in immuosera and vaccines	Phénol dans les immunosérums et les vaccins	Fenolo nei sierimmuni e nei vaccini
2.5.16.	Protein in polysaccharide vaccines	Protéines dans les vaccins polyosidiques	Proteine nei vaccini polisaccaridici
2.5.17.	Nucleic acids in polysaccharide vaccines	Acides nucléiques dans les vaccins polyosidiques	Acidi nucleici nei vaccini polisaccaridici
2.5.18.	Phosphorus in polysaccharide vaccines	Phosphore dans les vaccins polyosidiques	Fosforo nei vaccini polisaccaridici
2.5.19.	O-Acetyl in polysaccharide vaccines	O-Acétyle dans les vaccins polyosidiques	O-Acetile nei vaccini polisaccaridici
2.5.20.	Hexosamines in polysaccharide vaccines	Hexosamines dans les vaccins polyosidiques	Esosammine nei vaccini polisaccaridici
2.5.21.	Methylpentoses in polysaccharide vaccines	Méthylpentoses dans les vaccins polyosidiques	Metilpentosi nei vaccini polisaccaridici
2.5.22.	Uronic acids in polysaccharide vaccines	Acides uroniques dans les vaccins polyosidiques	Acidi uronici nei vaccini polisaccaridici
2.5.23.	Sialic acid in polysaccharide vaccines	Acide sialique dans les vaccins polyosidiques	Acido sialico nei vaccini polisaccaridici
2.5.24.	Carbon dioxide in gases	Dioxyde de carbone dans les gaz	Carbonio diossido nei gas
2.5.25.	Carbon monoxide in gases	Monoxyde de carbone dans les gaz	Carbonio monossido nei gas
2.5.26.	Nitrogen monoxide and nitrogen dioxide in gases	Monoxyde d'azote et dioxyde d'azote dans les gaz	Azoto monossido e azoto diossido nei gas
2.5.27.	Oxygen in gases	Oxygène dans les gaz	Ossigeno nei gas
2.5.28.	Water in gases	Teneur en eau dans les gaz	Acqua nei gas
2.5.29.	Sulphur dioxide	Dioxyde de soufre	Dioossido di zolfo
2.5.30.	Oxidising substances	Substances oxydantes	Sostanze ossidanti
2.5.31.	Ribose in polysaccharide vaccines	Ribose dans les vaccins polyosidiques	Ribosio nei vaccini polisaccaridici
2.5.32.	Water: micro-determination	Microdosage de l'eau	Microdeterminazione dell'acqua
2.5.33.	Total protein	Protéines totales	Proteine totali
2.5.34.	Acetic acid in synthetic peptides	Acide acétique dans les peptides synthétiques	Acido acetico nei peptidi sintetici
2.5.35.	Nitrous oxide in gases	Protoxyde d'azote dans le gaz	Azoto protossido nei gas
2.5.36.	Anisidine value	Indice d'anisidine	Indice di anisidina
2.6.	Biological tests	Méthodes biologiques	Saggi biologici
2.6.1.	Sterility	Stérilité	Sterilità
2.6.2.	Mycobacteria	Mycobactéries	Micobatteri
2.6.7.	Mycoplasmas	Mycoplasmes	Micoplasm
2.6.8.	Pyrogens	Pyrogènes	Pirogeni
2.6.9.	Abnormal toxicity	Toxicité anormale	Tossicità anormale
2.6.10.	Histamine	Histamine	Istamina
2.6.11.	Depressor substances	Substances hypotensives	Sostanze ipotensive
2.6.12.	Microbiological examination of non-sterile products: total viable aerobic count	Contrôle microbiologique des produits non stériles: dénombrement des germes aérobies viables totaux	Contaminazione microbica dei prodotti non obbligatoriamente sterili: conta totale dei microrganismi aerobi vivi
2.6.13.	Microbiological examination of non-sterile products: test for specified micro-organisms	Contrôle microbiologique des produits non stériles: recherche de microorganismes spécifiés	Contaminazione microbica dei prodotti non obbligatoriamente sterili: saggi per i microrganismi specificati
2.6.14.	Bacterial endotoxins	Essai des endotoxines bactériennes	Endotossine batteriche
2.6.15.	Prekallikrein activator	Activateur de prékallikréine	Attivatore della precallicreina
2.6.16.	Test for extraneous agents in viral vaccines for human use	Essai des agents étrangers dans les vaccins viraux pour usage humain	Saggio per gli agenti estranei nei vaccini virali per uso umano

2.6.17.	Test for anticomplementary activity of immunoglobulin	Essai d'activité anticomplémentaire de l'immunoglobuline	Attività anticomplementare dell'immunoglobulina
2.6.18.	Test for neurovirulence of live virus vaccines	Essai de neurovirulence des vaccins a virus vivant	Saggio per la neurovirulenza dei vaccini di virus vivi
2.6.19.	Test for neurovirulence of poliomyelitis vaccine (oral)	Essai de neurovirulence du vaccin poliomyélitique oral	Saggio per la neurovirulenza del vaccino poliomieltico per uso orale
2.6.20.	Anti-A and anti-B haemagglutinins (indirect method)	Titre en hémagglutinines anti-A et anti-B (méthode indirecte)	Emoagglutinine anti-A ed anti-B (metodo indiretto)
2.6.21.	Nucleic acid amplification techniques	Techniques d'amplification des acides nucléiques	Tecniche di amplificazione dell'acido nucleico
2.6.22.	Activated coagulation factors	Facteurs de coagulation activés	Fattori di coagulazione attivati
2.6.24.	Avian viral vaccines: tests for extraneous agents in seed lots	Vaccins viraux aviaires: recherche des agents étrangers dans les lots de semence	Vaccini virali aviari: saggi per gli agenti estranei nei lotti di semenza
2.6.25.	Avian live virus vaccines: tests for extraneous agents in batches of finished product	Vaccins viraux vivants aviaires: recherche des agents étrangers dans les lots de produit final	Vaccini virali vivi aviari: saggi per gli agenti estranei nei lotti di prodotto finito
2.6.26.	Test for anti-D antibodies in human immunoglobulin for intravenous administration	Recherche des anticorps anti-D dans l'immunoglobuline humaine pour administration par voie intraveineuse	Saggio per gli anticorpi anti-D nella immunoglobulina umana per somministrazione endovenosa
2.6.27.	Microbiological control of cellular products	Contrôle microbiologique des produits cellulaires	Controllo microbiologico dei prodotti cellulari
2.7.	Biological assays	Titrages biologiques	Dosaggi biologici
2.7.1.	Immunochemical methods	Méthodes immunochimiques	Metodi immunochimici
2.7.2.	Microbiological assay of antibiotics	Titration microbiologique des antibiotiques	Dosaggio microbiologico degli antibiotici
2.7.4.	Assay of human coagulation factor VIII	Dosage du facteur VIII de coagulation humain	Dosaggio del fattore VIII di coagulazione del sangue umano
2.7.5.	Assay of heparin	Titration de l'héparine	Dosaggio dell'eparina
2.7.6.	Assay of diphtheria vaccine (adsorbed)	Titration de l'activité du vaccin diphtérique adsorbé	Dosaggio del vaccino difterico adsorbito
2.7.7.	Assay of pertussis vaccine	Titration de l'activité du vaccin coquelucheux	Dosaggio del vaccino pertossico
2.7.8.	Assay of tetanus vaccine (adsorbed)	Titration de l'activité du vaccin tétanique adsorbé	Dosaggio del vaccino tetanico adsorbito
2.7.9.	Test for Fc function of immunoglobulin	Essai de la fonction Fc de l'immunoglobuline	Saggio della funzione Fc dell'immunoglobulina
2.7.10.	Assay of human coagulation factor VII	Dosage du facteur VII de coagulation humain	Dosaggio del fattore VII di coagulazione del sangue umano
2.7.11.	Assay of human coagulation factor IX	Dosage du facteur IX de coagulation humain	Dosaggio del fattore IX di coagulazione del sangue umano
2.7.12.	Assay of heparin in coagulation factors	Dosage de l'héparine dans les facteurs de coagulation	Dosaggio dell'eparina nei concentrati dei fattori della coagulazione
2.7.13.	Assay of human anti-D immunoglobulin	Dosage de l'immunoglobuline humaine anti-D	Dosaggio dell'immunoglobulina umana anti-D
2.7.14.	Assay of hepatitis A vaccine	Titration de l'activité du vaccin de l'hépatite A	Dosaggio del vaccino dell'epatite A
2.7.15.	Assay of hepatitis B vaccine (rDNA)	Titration de l'activité du vaccin de l'hépatite B (ADNr)	Dosaggio del vaccino dell'epatite B (DNAr)
2.7.16.	Assay of pertussis vaccine (acellular)	Titration de l'activité du vaccin coquelucheux acellulaire	Dosaggio del vaccino pertossico acellulare
2.7.17.	Assay of human antithrombin III	Titration de l'antithrombine III humaine	Dosaggio dell'antitrombina III umana
2.7.18.	Assay of human coagulation factor II	Dosage du facteur II de coagulation humain	Dosaggio del fattore II di coagulazione del sangue umano
2.7.19.	Assay of human coagulation factor X	Dosage du facteur X de coagulation humain	Dosaggio del fattore X di coagulazione del sangue umano
2.7.20.	<i>In vivo</i> assay of poliomyelitis vaccine (inactivated)	Titration de l'activité <i>in vivo</i> du vaccin poliomyélitique inactivé	Dosaggio <i>in vivo</i> del vaccino inattivato della poliomielite
2.7.21.	Assay of human von Willebrand factor	Dosage du facteur Willebrand humain	Dosaggio del fattore di von Willebrand umano

2.7.22.	Assay of human coagulation factor XI	Dosage du facteur XI de coagulation humain	Dosaggio del fattore XI di coagulazione del sangue umano
2.7.23.	Numeration of CD34/CD45+ cells in haematopoietic products	Numération des cellules CD34/CD45+ dans les produits hématopoïétiques	Numerazione delle cellule CD34/CD45+ nei prodotti ematopoietici
2.7.24.	Flow cytometry	Cytométrie en flux	Citometria di flusso
2.7.27.	Flocculation value (Lf) of diphtheria and tetanus toxins and toxoids (Ramon assay)	Indice de floculation (Lf) des toxines et anatoxines diphtériques et tétaniques (titrage de Ramon)	Indice di flocculazione (Lf) delle tossine e delle anatoxine difterica e tetanica (dosaggio Ramon)
2.7.28.	Colony-forming cell assay for human haematopoietic progenitor cells	Titration des progéniteurs hématopoïétiques humains format colonie	Dosaggio delle cellule progenitrici ematopoietiche umane formanti colonia
2.7.29.	Nucleated cell count and viability	Numération et viabilité des cellules nucléées	Conta e vitalità delle cellule nucleate
2.8.	Methods in pharmacognosy	Méthodes de pharmacognosie	Metodi generali di farmacognosia
2.8.1.	Ash insoluble in hydrochloric acid	Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique	Ceneri insolubili in acido cloridrico
2.8.2.	Foreign matter	Éléments étrangers	Elementi estranei
2.8.3.	Stomata and stomatal index	Stomates et indice stomatique	Stomi ed indice stomatico
2.8.4.	Swelling index	Indice de gonflement	Indice di rigonfiamento
2.8.5.	Water in essential oils	Eau dans les huiles essentielles	Acqua nelle essenze
2.8.6.	Foreign esters in essential oils	Esters étrangers dans les huiles essentielles	Esteri estranei nelle essenze
2.8.7.	Fatty oils and resinified essential oils in essential oils	Huiles grasses et huiles essentielles résinifiées dans les huiles essentielles	Oli grassi ed essenze resinificate nelle essenze
2.8.8.	Odour and taste of essential oils	Odeur et saveur des huiles essentielles	Odore e sapore delle essenze
2.8.9.	Residue on evaporation of essential oils	Résidu d'évaporation des huiles essentielles	Residuo alla evaporazione delle essenze
2.8.10.	Solubility in alcohol of essential oils	Solubilité dans l'alcool des huiles essentielles	Solubilità delle essenze in alcool
2.8.11.	Assay of 1,8-cineole in essential oils	Dosage du 1,8-cinéole dans les huiles essentielles	Dosaggio dell'1,8-cineolo nelle essenze
2.8.12.	Determination of essential oils in vegetable drugs	Détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales	Determinazione delle essenze nelle droghe vegetali
2.8.13.	Pesticide residues	Résidus de pesticides	Residui di pesticidi
2.8.14.	Determination of tannins in herbal drugs	Détermination des tanins dans les drogues végétales	Determinazione dei tannini nelle droghe vegetali
2.8.15.	Bitterness value	Indice d'amertume	Indice di amarezza
2.8.16.	Dry residue of extracts	Résidu sec des extraits	Residuo secco degli estratti
2.8.17.	Loss on drying of extracts	Perte à la dessiccation des extraits	Perdita all'essiccamento degli estratti
2.8.18.	Determination of aflatoxin B ₁ in herbal drugs	Dosage de l'aflatoxine B ₁ dans les drogues végétales	Determinazione dell'aflatossina B ₁ nelle droghe vegetali
2.8.20.	Herbal drugs: sampling and sample preparation	Echantillonnage et préparation d'échantillons de drogues végétales	Droghe vegetali: campionamento e preparazione del campione
2.9.	Pharmaceutical technical procedures	Méthodes de pharmacotechnie	Saggi e procedimenti tecnologici
2.9.1.	Disintegration of tablets and capsules	Désagrégation des comprimés et des capsules	Disaggregazione delle compresse e delle capsule
2.9.2.	Disintegration of suppositories and pessaries	Désagrégation des suppositoires et des ovules	Disaggregazione delle supposte e degli ovuli
2.9.3.	Dissolution test for solid dosage forms	Essai de dissolution des formes solides	Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide
2.9.4.	Dissolution test for transdermal patches	Essai de dissolution des dispositifs transdermiques	Saggio di dissoluzione per i cerotti transdermici
2.9.5.	Uniformity of mass of single-dose preparations	Uniformité de masse des préparations unidoses	Uniformità di massa delle preparazioni a dose unica
2.9.6.	Uniformity of content of single-dose preparations	Uniformité de teneur des préparations unidoses	Uniformità di contenuto delle preparazioni a dose unica
2.9.7.	Friability of uncoated tablets	Friabilité des comprimés non enrobés	Friabilità delle compresse non rivestite

2.9.8.	Resistance to crushing of tablets	Résistance à la rupture des comprimés	Resistenza alla rottura delle compresse
2.9.9.	Measurement of consistency by penetrometry	Mesure de la consistance par pénétrométrie	Misura della consistenza per penetrometria
2.9.10.	Ethanol content and alcoholimetric tables	Teneur en éthanol et tableaux alcoométriques	Contenuto di etanolo e tabelle alcoolimetriche
2.9.11.	Test for methanol and 2-propanol	Recherche du méthanol et du 2-propanol	Saggio per metanolo e 2-propanolo
2.9.12.	Sieve test	Classification granulométrique des poudres par tamisage	Classificazione granulometrica delle polveri mediante setacciatura
2.9.14.	Specific surface area by air permeability	Surface spécifique par perméabilité à l'air	Area superficiale specifica per permeabilità all'aria
2.9.15.	Apparent volume	Volume apparent	Volume apparente
2.9.16.	Flowability	Écoulement	Scorrimento
2.9.17.	Test for extractable volume of parenteral preparations	Essai du volume extractible pour les préparations parentérales	Saggio per il volume estraibile delle preparazioni parenterali
2.9.18.	Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles	Préparations pour inhalation: évaluation aérodynamique des particules fines	Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini
2.9.19.	Particulate contamination: sub-visible particles	Contamination particulaire: particules non visibles	Contaminazione particellare: particelle non visibili
2.9.20.	Particulate contamination: visible particles	Contamination particulaire: particules visibles	Contaminazione particellare: particelle visibili
2.9.22.	Softening time determination of lipophilic suppositories	Temps de ramollissement des suppositoires lipophiles	Determinazione del tempo di rammollimento di supposte lipofile
2.9.23.	Pycnometric density of solids	Densité pycnométrique des solides	Densità picnometrica dei solidi
2.9.25.	Dissolution test for medicated chewing gums	Essai de dissolution des gommés à mâcher médicamenteuses	Saggio di dissoluzione per le gomme da masticare medicate
2.9.26.	Specific surface area by gas adsorption	Surface spécifique par adsorption gazeuse	Area superficiale specifica mediante adsorbimento di gas
2.9.27.	Uniformity of mass of delivered doses from multidose containers	Uniformité de masse de la dose délivrée par les récipients multidoses	Uniformità di massa delle dosi rilasciate da contenitori multi-dose
2.9.29.	Intrinsic dissolution	Dissolution intrinsèque	Dissoluzione intrinseca
2.9.31.	Particle size analysis by laser light diffraction	Analyse de la taille des particules par diffraction de la lumière laser	Analisi della dimensione delle particelle mediante diffrazione della luce laser
2.9.33.	Characterisation of crystalline and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction (XRPD)	Caractérisation des solides cristallins et partiellement cristallins par diffraction X sur poudre	Caratterizzazione dei solidi cristallini e parzialmente cristallini mediante diffrazione dei raggi X sulla polvere (DRXP)
2.9.36.	Powder flow	Aptitude à l'écoulement des poudres	Scorrimento delle polveri
2.9.37.	Optical microscopy	Microscopie optique	Microscopia ottica
2.9.38.	Particle size distribution estimation by analytical sieving	Estimation de la distribution granulométrique par tamisage analytique	Distribuzione delle dimensioni delle particelle mediante setacciatura analitica
2.9.40.	Uniformity of dosage units	Uniformité des préparations unidoses	Uniformità della unità di dosaggio
2.9.41.	Friability of granules and spheroids	Friabilité des granules et des sphéroïdes	Friabilità di granuli e degli sferoidi
2.9.42.	Dissolution test for lipophilic solid dosage forms	Essai de dissolution des formes solides lipophiles	Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide lipofile
2.9.43.	Apparent dissolution	Dissolution apparente	Dissoluzione apparente
3.	Materials for containers and containers	Matériaux utilisés dans la fabrication des récipients et récipients	Materiali usati nella fabbricazione di contenitori e contenitori
3.1.	Materials used for the manufacture of containers	Matériaux utilisés dans la fabrication des récipients	Materiali usati nella fabbricazione di contenitori
3.1.1.	Materials for containers for human blood and blood components	Matériaux pour récipients destinés à contenir le sang humain et les produits du sang	Materiali per contenitori per sangue umano e sue frazioni
3.1.1.1.	Materials based on plasticised poly(vinyl chloride) for containers for human blood and blood components	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour récipients destinés à contenir le sang humain et les produits du sang	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per sangue umano e sue frazioni

3.1.1.2.	Materials based on plasticised poly(vinyl chloride) for tubing used in sets for the transfusion of blood and blood components	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour tubulures utilisées dans les nécessaires pour transfusion du sang et des composants sanguins	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per tubi usati per la trasfusione di sangue e sue frazioni
3.1.3.	Polyolefines	Polyoléfines	Poliiolefine
3.1.4.	Polyethylene without additives for containers for parenteral preparations and for ophthalmic preparations	Polyéthylène sans additif pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques	Polietilene senza additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche
3.1.5.	Polyethylene with additives for containers for parenteral preparations and for ophthalmic preparations	Polyéthylène avec additifs pour récipients destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques	Polietilene con additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche
3.1.6.	Polypropylene for containers and closures for parenteral preparations and ophthalmic preparations	Polypropylène pour récipients et fermetures destinés aux préparations parentérales et aux préparations ophtalmiques	Polipropilene per contenitori e chiusure per preparazioni parenterali ed oftalmiche
3.1.7.	Poly(ethylene - vinyl acetate) for containers and tubing for total parenteral nutrition preparations	Poly(éthylène – acétate de vinyle) pour récipients et tubulures destinés aux préparations pour l'alimentation parentérale totale	Etilene-vinile acetato copolimero per contenitori e tubolature per preparazioni destinate alla nutrizione parenterale totale
3.1.8.	Silicone oil used as a lubricant	Huile de silicone utilisée comme lubrifiant	Olio di silicone usato come lubrificante
3.1.9.	Silicone elastomer for closures and tubing	Silicone-élastomère pour fermetures et tubulures	Silicone elastomero per chiusure e tubolature
3.1.10.	Materials based on non-plasticised poly(vinyl chloride) for containers for non-injectable, aqueous solutions	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) non plastifié pour conditionnement des solutions aqueuses non injectables	Materiali a base di polivinile cloruro non plastificato per contenitori per soluzioni acquose non iniettabili
3.1.11.	Materials based on non-plasticised poly(vinyl chloride) for containers for dry dosage forms for oral administration	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) non plastifié pour conditionnement de formes sèches pour administration par voie orale	Materiali a base di polivinile cloruro non plastificato per contenitori per forme farmaceutiche essiccate per uso orale
3.1.13.	Plastic additives	Additifs pour plastiques	Additivi per plastica
3.1.14.	Materials based on plasticised poly(vinyl chloride) for containers for aqueous solutions for intravenous infusion	Matériaux à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour récipients destinés à contenir les solutions aqueuses pour perfusion intraveineuse	Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per soluzioni acquose per infusione endovenosa
3.1.15.	Polyethylene terephthalate for containers for preparations not for parenteral use	Poly(téréphtalate d'éthylène) pour récipients pour préparations à usage non parentéral	Polietilene tereftalato per contenitori per preparazioni per uso non parenterale
3.2.	Containers	Récipients	Contenitori
3.2.1.	Glass containers for pharmaceutical use	Récipients de verre pour usage pharmaceutique	Contenitori di vetro per uso farmaceutico
3.2.2.	Plastic containers and closures for pharmaceutical use	Récipients et fermetures en matière plastique pour usage pharmaceutique	Contenitori e chiusure in plastica per uso farmaceutico
3.2.2.1.	Plastic containers for aqueous solutions for infusion	Récipients en matière plastique destinés au conditionnement des solutions aqueuses pour perfusion	Contenitori in plastica per soluzioni acquose per infusione
3.2.3.	Sterile plastic containers for human blood and blood components	Récipients stériles en matière plastique pour le sang humain et les produits du sang	Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni
3.2.4.	Empty sterile containers of plasticised poly(vinyl chloride) for human blood and blood components	Récipients vides et stériles en matériau à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié pour le sang humain et les produits du sang	Contenitori vuoti sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per sangue umano e sue frazioni
3.2.5.	Sterile containers of plasticised poly (vinyl chloride) for human	Récipients stériles en matériau à base de poly(chlorure de vinyle) plastifié	Contenitori sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per

	blood containing anticoagulant solution	pour le sang humain, et renfermant une solution anticoagulante	sangue umano contenenti una soluzione anticoagulante
3.2.6.	Sets for the transfusion of blood and blood components	Nécessaires pour la transfusion du sang et des produits du sang	Apparati tubolari per la trasfusione di sangue e sue frazioni
3.2.8.	Sterile single-use plastic syringes	Seringues en matière plastique non réutilisables, stériles	Siringhe di plastica monouso sterili
3.2.9.	Rubber closures for containers for aqueous parenteral preparations, for powders and for freeze-dried powders	Fermetures en caoutchouc pour récipients destinés aux préparations parentérales aqueuses, aux poudres et aux poudres cryodesséchées	Chiusure in materiale elastomero per contenitori per preparazioni acquose ad uso parenterale, per polveri e per polveri liofilizzate
4.	Reagents	Réactifs, solutions et substances étalons	Reattivi
4.1.	Reagents, standard solutions, buffer solutions	Réactifs, solutions étalons et solutions tampons	Reattivi, soluzioni standard, soluzioni tampone
4.1.1.	Reagents	Réactifs	Reattivi
4.1.2.	Standard solutions for limit tests	Solutions étalons pour essais limites	Soluzioni standard per saggi limite
4.1.3.	Buffer solutions	Solutions tampons	Soluzione tampone
4.2.	Volumetric analysis	Volumétrie	Analisi volumetriche
4.2.1.	Primary standards for volumetric solutions	Substances étalons pour volumétrie	Reattivi speciali per volumetria
4.2.2.	Volumetric solutions	Solutions titrées	Soluzioni titolate
5.	General texts	Textes généraux	Argomenti generali
5.1.	General texts on microbiology	Textes généraux sur la microbiologie	Argomenti generali sulla sterilità
5.1.1.	Methods of preparation of sterile products	Méthodes de préparation des produits stériles	Metodi di preparazione di prodotti sterili
5.1.2.	Biological indicators of sterilisation	Indicateurs biologiques de stérilisation	Indicatori biologici di sterilizzazione
5.1.3.	Efficacy of antimicrobial preservation	Efficacité de la conservation antimicrobienne	Efficacia della conservazione antimicrobica
5.1.4.	Microbiological quality of pharmaceutical preparations	Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques	Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche
5.1.5.	Application of the F_0 concept to steam sterilisation of aqueous preparations	Application du concept F_0 à la stérilisation par la vapeur des préparations aqueuses	Applicazione del concetto F_0 alla sterilizzazione mediante vapore delle preparazioni acquose
5.1.6.	Alternative methods for control of microbiological quality	Méthodes alternatives pour le contrôle de la qualité microbiologique	Metodi alternativi per il controllo della qualità microbiologica
5.1.7.	Viral safety	Sécurité virale	Sicurezza virale
5.2.	General texts on biological products	Textes généraux sur les produits biologiques	Argomenti generali sui prodotti biologici
5.2.1.	Terminology used in monographs on biological products	Terminologie utilisée dans les monographies sur les produits biologiques	Terminologia usata nelle monografie dei prodotti biologici
5.2.2.	Chicken flocks free from specified pathogens for the production and quality control of vaccines	Élevages de poulets exempts de microorganismes pathogènes spécifiés pour la production et le contrôle de qualité des vaccins	Allevamenti di polli esenti da patogeni specificati per la produzione e il controllo di qualità dei vaccini
5.2.3.	Cell substrates for the production of vaccines for human use	Substrats cellulaires utilisés pour la production de vaccins pour usage humain	Substrati cellulari per la produzione di vaccini per uso umano
5.2.4.	Cell cultures for the production of veterinary vaccines	Cultures cellulaires utilisées pour la préparation de vaccins pour usage vétérinaire	Colture cellulari per la produzione di vaccini per uso veterinario
5.2.5.	Substances of animal origin for the production of veterinary vaccines	Substances d'origine animale utilisées pour la préparation de vaccins à usage vétérinaire	Sostanze di origine animale per la produzione di vaccini per uso veterinario
5.2.6.	Evaluation of safety of veterinary vaccines and immunosera	Évaluation de l'innocuité des vaccins et immunosérum vétérinaires	Valutazione dell'innocuità dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario
5.2.7.	Evaluation of efficacy of veterinary vaccines and immunosera	Évaluation de l'efficacité des vaccins et immunosérum vétérinaires	Valutazione dell'efficacia dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario
5.2.8.	Minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy	Réduction du risque de transmission des agents des encéphalopathies	Minimizzazione del rischio di trasmettere gli agenti delle

	agents via human and veterinary medicinal products	spongiformes animales par les médicaments à usage humain et vétérinaire	encefalopatie spongiformi animali attraverso i prodotti medicinali per uso umano e veterinario
5.2.9.	Evaluation of safety of each batch of veterinary vaccines and immunosera	Evaluation de l'innocuité de chaque lot des vaccins et immunosérums vétérinaires	Valutazione dell'innocuità di ciascun lotto dei vaccini e sierimmuni per uso veterinario
5.3.	Statistical analysis of results of biological assays and tests	Analyse statistique des résultats des dosages et essais biologiques	Analisi statistica dei risultati dei dosaggi e dei saggi biologici
5.4.	Residual solvents	Solvants résiduels	Solventi residui
5.5.	Alcoholimetric tables	Tables alcoométriques	Tabelle alcolimetriche
5.6.	Assay of interferons	Titration des interférons	Dosaggio degli interferoni
5.7.	Table of physical characteristics of radionuclides mentioned in the European Pharmacopoeia	Tableau des caractéristiques des radionucléides mentionnés dans la Pharmacopée Européenne	Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea
5.8.	Pharmacopoeial harmonisation	Harmonisation des Pharmacopées	Armonizzazione delle Farmacopee
5.9.	Polymorphism	Polymorphisme	Polimorfismo
5.10.	Control of impurities in substances for pharmaceutical use	Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique	Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico
5.11.	Characters section in monographs	Rubrique Caractères dans les monographies	Sezione Caratteri nelle monografie
5.12.	Reference standards	Étalons de référence	Standard di riferimento
5.14.	Gene transfer medicinal products for human use	Médicaments de transfert génétique pour usage humain	Medicinali per il trasferimento genico per uso umano

**MONOGRAFIE
MONOGRAFIE GENERALI**

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Aetherolea	(2098)	Essential oils	Huiles essentielles	Essenze
Anticorpora monoclonalia ad usum humanum	(2031)	Monoclonal antibodies for human use	Anticorps monoclonaux pour usage humain	Anticorpi monoclonali per uso umano
Corpora ad usum pharmaceuticum	(2034)	Substances for pharmaceutical use	Substances pour usage pharmaceutique	Sostanze per uso farmaceutico
Extracta	(0765)	Extracts	Extraits	Estratti
Immunosera ad usum veterinarium	(0030)	Immunosera for veterinary use	Immunosérums pour usage vétérinaire	Sierimmuni per uso veterinario
Immunosera ex animale ad usum humanum	(0084)	Immunosera for human use, animal	Immunosérums d'origine animale pour usage humain	Sierimmuni di origine animale per uso umano
Olea herbaria	(1579)	Vegetable fatty oils	Huiles grasses végétales	Oli grassi vegetali
Plantae ad ptisanam	(1435)	Herbal teas	Plantes pour tisanes	Piante per tisane
Plantae medicinales	(1433)	Herbal drugs	Drogues végétales	Droghe vegetali
Plantae medicinales praeparatore	(1434)	Herbal drug preparations	Préparations à base de drogues végétales	Preparazioni a base di droghe vegetali
Producta ab arte ADN recombinandorum	(0784)	Recombinant DNA technology, products of	ADN recombinant (produits obtenus par la méthode dite de l')	Prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante
Producta ab fermentatione	(1468)	Products of fermentation	Produits de fermentation	Prodotti di fermentazione
Producta allergenica	(1063)	Allergen products	Produits allergènes	Prodotti allergenici
Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium	(1483)	Products with risk of transmitting agents of animal spongiform encephalopathies	Produits comportant un risque de transmission d'agents d'encéphalopathies spongiformes animales	Prodotti aventi il rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali
Radiopharmaceutica	(0125)	Radiopharmaceutical preparations	Préparations radiopharmaceutiques	Preparazioni radiofarmaceutiche
Vaccina ad usum humanum	(0153)	Vaccines for human use	Vaccins pour usage humain	Vaccini per uso umano
Vaccina ad usum veterinarium	(0062)	Vaccines for veterinary use	Vaccins pour usage vétérinaire	Vaccini per uso veterinario

FORME FARMACEUTICHE

-	(1502)	Glossary	Glossaire	Glossario
---	--------	----------	-----------	-----------

Auricularia	(0652)	Ear preparations	Préparations auriculaires	Preparazioni auricolari
Capsulae	(0016)	Capsules	Capsules	Capsule
Compressi	(0478)	Tablets	Comprimés	Compresse
Empлаstra transcutanea	(1011)	Patches, transdermal	Dispositifs transdermiques	Cerotti transdermici
Granulata	(0499)	Granules	Granulés	Granulati
Inhalanda	(0671)	Preparations for inhalation	Préparations pour inhalation	Preparazioni per inalazione
Masticabilia gummis medicata	(1239)	Chewing gums, medicated	Gommes à mâcher médicamenteuses	Gomme da masticare medicate
Musci medicati	(1105)	Foams, medicated	Mousses médicamenteuses	Schiуме medicate
Nasalia	(0676)	Nasal preparations	Préparations nasales	Preparazioni nasali
Ophthalmica	(1163)	Eye preparations	Préparations ophtalmiques	Preparazioni oftalmiche
Parenteralia	(0520)	Parenteral preparations	Préparations parentérales	Preparazioni parenterali
Praeadmixta ad alimenta medicata ad usum veterinarium	(1037)	Premixes for medicated feeding stuffs for veterinary use	Prémélanges pour aliments médicamenteux pour usage vétérinaire	Premiscele per mangimi medicati per uso veterinario
Praeparationes ad irrigationem	(1116)	Preparations for irrigation	Préparations pour irrigation	Preparazioni per irrigazione
Praeparationes buccales	(1807)	Oromucosal preparations	Préparations muco-adhésives	Preparazioni oromucosali
Praeparationes intramammariae ad usum veterinarium	(0945)	Intramammary preparations for veterinary use	Préparations intramammaires pour usage vétérinaire	Preparazioni intramammarie per uso veterinario
Praeparationes intraruminales	(1228)	Intraruminal devices	Dispositifs intraruminaux	Dispositivi intraruminali
Praeparationes intrauterinae ad usum veterinarium	(1806)	Intrauterine preparations for veterinary use	Préparations intra-utérines pour usage vétérinaire	Preparazioni intrauterine per uso veterinario
Praeparationes liquidae ad usum dermicum	(0927)	Liquid preparations for cutaneous application	Préparations liquides pour application cutanée	Preparazioni liquide per applicazione cutanea
Praeparationes liquidae peroraliae	(0672)	Liquid preparations for oral use	Préparations liquides pour usage oral	Preparazioni liquide per uso orale
Praeparationes liquidae veterinariae ad usum dermicum	(1808)	Veterinary liquid preparations for cutaneous application	Préparations vétérinaires liquides pour application cutanée	Preparazioni liquide veterinarie per applicazione cutanea
Praeparationes molles ad usum dermicum	(0132)	Semi-solid preparations for cutaneous application	Préparations semi-solides pour application cutanée	Preparazioni semisolide per applicazione cutanea
Praeparationes pharmaceuticae in vasis cum pressu	(0523)	Pressurised pharmaceutical preparations	Préparations pharmaceutiques pressurisées	Preparazioni farmaceutiche pressurizzate
Pulveres ad usum dermicum	(1166)	Powders for cutaneous application	Poudres pour application cutanée	Polveri per applicazione cutanea
Pulveres perorales	(1165)	Powders, oral	Poudres orales	Polveri orali
Rectalia	(1145)	Rectal preparations	Préparations rectales	Preparazioni rettali
Styli	(1154)	Sticks	Bâtons	Bastoncini
Tamponae medicatae	(1155)	Tampons, medicated	Tampons médicamenteux	Tamponi medicati
Vaginalia	(1164)	Vaginal preparations	Préparations vaginales	Preparazioni vaginali

SIERIMMUNI PER USO UMANO

Immunoserum botulinicum	(0085)	Botulinum antitoxin	Immunosérum botulinique	Sierimmune botulinico
Immunoserum contra venena viperarum europaeorum	(0145)	Viper venom antiserum, european	Immunosérum antivenimeux de vipère européenne	Sierimmune contro il veleno della vipera europea
Immunoserum diphthericum	(0086)	Diphtheria antitoxin	Immunosérum diphtérique	Sierimmune difterico
Immunoserum gangraenicum (Clostridium novyi)	(0087)	Gas-gangrene antitoxin (novyi)	Immunosérum gangreneux (Clostridium novyi)	Sierimmune contro la gangrena gassosa da Clostridium novyi
Immunoserum gangraenicum (Clostridium perfringens)	(0088)	Gas-gangrene antitoxin (perfringens)	Immunosérum gangreneux (Clostridium perfringens)	Sierimmune contro la gangrena gassosa da Clostridium perfringens

Immunoserum gangraenicum (Clostridium septicum)	(0089)	Gas-gangrene antitoxin (septicum)	Immunosérum gangreneux (Clostridium septicum)	Sierimmune contro la gangrena gassosa da Clostridium septicum
Immunoserum gangraenicum mixtum	(0090)	Gas-gangrene antitoxin, mixed	Immunosérum gangreneux polyvalent	Sierimmune polivalente contro la gangrena gassosa
Immunoserum tetanicum ad usum humanum	(0091)	Tetanus antitoxin for human use	Immunosérum tétanique pour usage humain	Sierimmune antitetanico per uso umano

SIERIMMUNI PER USO VETERINARIO

Immunoserum clostridii novyi alpha ad usum veterinarium	(0339)	Clostridium novyi alpha antitoxin for veterinary use	Immunosérum clostridium novyi alpha pour usage vétérinaire	Sierimmune anti Clostridium novyi alfa per uso veterinario
Immunoserum clostridii perfringentis beta ad usum veterinarium	(0340)	Clostridium perfringens beta antitoxin for veterinary use	Immunosérum clostridium perfringens bêta pour usage vétérinaire	Sierimmune anti Clostridium perfringens beta per uso veterinario
Immunoserum clostridii perfringentis epsilon ad usum veterinarium	(0341)	Clostridium perfringens epsilon antitoxin for veterinary use	Immunosérum clostridium perfringens epsilon pour usage vétérinaire	Sierimmune anti Clostridium perfringens epsilon per uso veterinario
Immunoserum tetanicum ad usum veterinarium	(0343)	Tetanus antitoxin for veterinary use	Immunosérum tétanique pour usage vétérinaire	Sierimmune antitetanico per uso veterinario

VACCINI PER USO UMANO

BCG ad immunocurationem	(1929)	BCG for immunotherapy	BCG pour immunothérapie	BCG per immunoterapia
Vaccinum anthracis adsorbatum ab colato culturarum ad usum humanum	(2188)	Anthrax vaccine for human use (adsorbed, prepared from culture filtrates)	Vaccin de la fièvre charbonneuse pour usage humain (adsorbé, préparé à partir de filtrats de culture)	Vaccino del carbonchio per uso umano (adsorbito, preparato da filtrati di colture)
Vaccinum cholerae	(0154)	Cholera vaccine	Vaccin cholérique	Vaccino colerico
Vaccinum cholerae cryodesiccatum	(0155)	Cholera vaccine, freeze-dried	Vaccin cholérique cryodesséché	Vaccino colerico liofilizzato
Vaccinum cholerae perorale inactivatum	(2327)	Cholera vaccine (inactivated, oral)	Vaccin cholérique oral inactivé	Vaccino del colera, inattivato, orale
Vaccinum diphtheriae adsorbatum	(0443)	Diphtheria vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique adsorbé	Vaccino difterico adsorbito
Vaccinum diphtheriae et tetani adsorbatum	(0444)	Diphtheria and tetanus vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique et tétanique adsorbé	Vaccino difterico e tetanico adsorbito
Vaccinum diphtheriae et tetani, antigeni-o(-is) minutum adsorbatum	(0647)	Diphtheria and tetanus vaccine (adsorbed, reduced antigen (s) content)	Vaccin diphtérique et tétanique adsorbé, à teneur réduite en antigène	Vaccino difterico e tetanico adsorbito a basso contenuto di antigene
Vaccinum diphtheriae, antigeniis minutum, adsorbatum	(0646)	Diphtheria vaccine (adsorbed, reduced antigen content)	Vaccin diphtérique adsorbé, à teneur réduite en antigène	Vaccino difterico adsorbito a basso contenuto di antigene
Vaccinum diphtheriae, tetani et hepatitis B (ADNr) adsorbatum	(2062)	Diphtheria, tetanus and hepatitis B (rDNA) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique et de l'hépatite B (ADNr) adsorbé	Vaccino difterico, tetanico e dell'epatite B (DNAr) adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis adsorbatum	(0445)	Diphtheria, tetanus and pertussis vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique et coquelucheux adsorbé	Vaccino difterico, tetanico e pertossico adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum	(1931)	Diphtheria, tetanus and pertussis (acellular, component) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique et coquelucheux (acellulaire, multicomposé) adsorbé	Vaccino difterico, tetanico e pertossico (acellulare, multicomposto), adsorbito
Vaccinum diphtheriae, tetani et poliomyelitis inactivatum, antigeni-o(-is) minutum, adsorbatum	(2328)	Diphtheria, tetanus and poliomyelitis (inactivated) vaccine (adsorbed, reduced antigen(s) content)	Vaccin diphtérique, tétanique et poliomyélitique (inactivé), adsorbé, à teneur réduite en antigène(s)	Vaccino difterico, tetanico e della poliomielite (inattivato), adsorbito, a contenuto ridotto di antigene(i)

Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis et poliomyelitis inactivatum adsorbatum	(2061)	Diphtheria, tetanus, pertussis and poliomyelitis (inactivated) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux et poliomyélique (inactivé), adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico e della poliomielite (inattivato), adsorbato
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum et poliomyelitis inactivatum adsorbatum	(1934)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component) and poliomyelitis (inactivated) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé) et poliomyélique (inactivé) adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) e della poliomielite (inattivato), adsorbato
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum cumque haemophili stirpi b coniugatum adsorbatum	(1932)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé) et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbato
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum et hepatitis B (ADNr) adsorbatum	(1933)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component) and hepatitis B (rDNA) vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé) et de l'hépatite B (ADNr), adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) e dell'epatite B (DNAr), adsorbato
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum, hepatitis B (ADNr), poliomyelitis inactivatum et haemophili stirpe b coniugatum adsorbatum	(2067)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component), hepatitis B (rDNA), poliomyelitis (inactivated) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé), de l'hépatite B (ADNr), poliomyélique inactivé et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) dell'epatite B (DNAr), della poliomielite (inattivato) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbato
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum, poliomyelitis inactivatum et haemophili stirpe b coniugatum adsorbatum	(2065)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component), poliomyelitis (inactivated) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé), poliomyélique (inactivé) et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto), della poliomielite (inattivato) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbato
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum et poliomyelitis inactivatum, antigeni-o-(is) minutum, adsorbatum	(2329)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component) and poliomyelitis (inactivated) vaccine (adsorbed, reduced antigen(s) content)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé) et poliomyélique (inactivé), adsorbé, à teneur réduite en antigène(s)	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto) e della poliomielite (inattivato), adsorbato, a contenuto ridotto di antigene(i)
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, poliomyelitis inactivatum et haemophili stirpe b coniugatum adsorbatum	(2066)	Diphtheria, tetanus, pertussis, poliomyelitis (inactivated) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux, poliomyélique (inactivé) et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico, della poliomielite (inattivato) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbato
Vaccinum encephalitis ixodibus advectae inactivatum	(1375)	Tick-borne encephalitis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de l'encéphalite verno-estivale	Vaccino inattivato dell'encefalite trasmessa da zecca
Vaccinum febris flavae vivum	(0537)	Yellow fever vaccine (live)	Vaccin vivant de la fièvre jaune	Vaccino vivo della febbre gialla
Vaccinum febris typhoidi	(0156)	Typhoid vaccine	Vaccin typhoïdique	Vaccino tifoideo
Vaccinum febris typhoidi cryodesiccatum	(0157)	Typhoid vaccine, freeze-dried	Vaccin typhoïdique cryodesséché	Vaccino tifoideo liofilizzato
Vaccinum febris typhoidis polysaccharidicum	(1160)	Typhoid polysaccharide vaccine	Vaccin typhoïdique polyosidique	Vaccino tifoideo polisaccaridico
Vaccinum febris typhoidis vivum perorale (stirpe Ty 21a)	(1055)	Typhoid vaccine (live, oral, strain Ty 21a)	Vaccin typhoïdique vivant, oral, souche Ty 21a	Vaccino vivo tifoideo per uso orale (ceppo Ty 21a)
Vaccinum haemophili stirpe b coniugatum	(1219)	Haemophilus type b conjugate vaccine	Vaccin conjugué de l'haemophilus type b	Vaccino coniugato dell'emofilo tipo b

Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum	(1107)	Hepatitis A vaccine (inactivated, adsorbed)	Vaccin inactivé de l'hépatite A adsorbé	Vaccino inattivato adsorbito dell'epatite A
Vaccinum hepatitis A inactivatum et hepatitis B (ADNr) adsorbatum	(1526)	Hepatitis A (inactivated) and hepatitis B (rDNA) vaccine (adsorbed)	Vaccin de l'hépatite A (inactivé) et de l'hépatite B (ADNr) adsorbé	Vaccino inattivato dell'epatite A e dell'epatite B (DNAr) adsorbito
Vaccinum hepatitis A inactivatum virosomale	(1935)	Hepatitis A vaccine (inactivated, virosome)	Vaccin de l'hépatite A (inactivé, virosomal)	Vaccino inattivato dell'epatite A virosomiale
Vaccinum hepatitis B (ADNr)	(1056)	Hepatitis B vaccine (rDNA)	Vaccin de l'hépatite B (ADNr)	Vaccino dell'epatite B (DNAr)
Vaccinum influenzae inactivatum ex cellulis corticisque antigeniis praeparatum	(2149)	Influenza vaccine (surface antigen, inactivated, prepared in cell cultures)	Vaccin grippal inactivé (antigène de surface, préparé sur cultures cellulaires)	Vaccino inattivato dell'influenza, antigene di superficie, preparato in colture cellulari
Vaccinum influenzae inactivatum ex cellulis virisque integris praeparatum	(2308)	Influenza vaccine (whole virion, inactivated, prepared in cell cultures)	Vaccin grippal inactivé à virion entier	Vaccino inattivato dell'influenza preparato con virus integri
Vaccinum influenzae inactivatum ex corticis antigeniis praeparatum	(0869)	Influenza vaccine (surface antigen, inactivated)	Vaccin grippal inactivé (antigène de surface)	Vaccino inattivato dell'influenza preparato con l'antigene di superficie
Vaccinum influenzae inactivatum ex corticis antigeniis praeparatum virosomale	(2053)	Influenza vaccine (surface antigen, inactivated, virosome)	Vaccin grippal inactivé (antigène de surface, virosomal)	Vaccino inattivato dell'influenza preparato con l'antigene virosomiale di superficie
Vaccinum influenzae inactivatum ex viris integris praeparatum	(0159)	Influenza vaccine (whole virion, inactivated)	Vaccin grippal inactivé à virion entier	Vaccino inattivato dell'influenza preparato con virus integri
Vaccinum influenzae inactivatum ex virorum fragmentis praeparatum	(0158)	Influenza vaccine (split virion, inactivated)	Vaccin grippal inactivé à virion fragmenté	Vaccino inattivato dell'influenza preparato con virus frammentati
Vaccinum meningococcale classis C coniugatum	(2112)	Meningococcal group C conjugate vaccine	Vaccin conjugué méningococcique groupe C	Vaccino meningococcico gruppo C coniugato
Vaccinum meningococcale polysaccharidicum	(0250)	Meningococcal polysaccharide vaccine	Vaccin méningococcique polysidique	Vaccino meningococcico polisaccaridico
Vaccinum morbillorum vivum	(0213)	Measles vaccine (live)	Vaccin rougeoleux vivant	Vaccino vivo del morbillo
Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum	(1057)	Measles, mumps and rubella vaccine (live)	Vaccin rougeoleux, des oreillons et rubéoleux, vivant	Vaccino vivo del morbillo, della parotite e della rosolia
Vaccinum parotitidis vivum	(0538)	Mumps vaccine (live)	Vaccin vivant des oreillons	Vaccino vivo della parotite
Vaccinum pertussis	(0160)	Pertussis vaccine	Vaccin coquelucheux	Vaccino pertossico
Vaccinum pertussis adsorbatum	(0161)	Pertussis vaccine (adsorbed)	Vaccin coquelucheux adsorbé	Vaccino pertossico adsorbito
Vaccinum pertussis sine cellulis copurificatum adsorbatum	(1595)	Pertussis vaccine (acellular, co-purified, adsorbed)	Vaccin coquelucheux (adsorbé, copurifié, acellulaire)	Vaccino pertossico (acellulare, co-purificato, adsorbito)
Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum	(1356)	Pertussis vaccine (acellular, component, adsorbed)	Vaccin coquelucheux (adsorbé, multicomposé, acellulaire)	Vaccino della pertosse (acellulare, multicomposto, adsorbito)
Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum	(0966)	Pneumococcal polysaccharide vaccine	Vaccin pneumococcique polysidique	Vaccino pneumococcico polisaccaridico
Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum coniugatum adsorbatum	(2150)	Pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin pneumococcique polysidique conjugué adsorbé	Vaccino pneumococcico polisaccaridico coniugato adsorbito
Vaccinum poliomyelitis inactivatum	(0214)	Poliomyelitis vaccine (inactivated)	Vaccin poliomyélitique inactivé	Vaccino inattivato poliomieltico
Vaccinum poliomyelitis perorale	(0215)	Poliomyelitis vaccine (oral)	Vaccin poliomyélitique oral	Vaccino poliomieltico per uso orale

Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum	(0216)	Rabies vaccine for human use prepared in cell cultures	Vaccin rabique pour usage humain préparé sur cultures cellulaires	Vaccino della rabbia per uso umano, preparato in colture cellulari
Vaccinum rubellae vivum	(0162)	Rubella vaccine (live)	Vaccin rubéoleux vivant	Vaccino vivo della rosolia
Vaccinum tetani adsorbatum	(0452)	Tetanus vaccine (adsorbed)	Vaccin tétanique adsorbé	Vaccino tetanico adsorbito
Vaccinum tuberculosis (BCG) cryodesiccatum	(0163)	BCG vaccine, freeze-dried	Vaccin BCG cryodesséché	Vaccino della tubercolosi (BCG) liofilizzato
Vaccinum varicellae vivum	(0648)	Varicella vaccine (live)	Vaccin varicelleux vivant	Vaccino vivo della varicella
Vaccinum variolae vivum	(0164)	Smallpox vaccine (live)	Vaccin vivant de la variole	Vaccino vivo del vaiolo

VACCINI PER USO VETERINARIO

Vaccinum actinobacillosis inactivatum ad suem	(1360)	Porcine actinobacillosis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de l'actinobacillose du porc	Vaccino inattivato dell'actinobacillosi del suino
Vaccinum adenovirosideis caninae vivum	(1951)	Canine adenovirus vaccine (live)	Vaccin vivant de l'adénovirose canine	Vaccino vivo dell'adenovirosi del cane
Vaccinum adenovirosideis caninae inactivatum	(1298)	Canine adenovirus vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de l'adénovirose canine	Vaccino inattivato dell'adenovirosi del cane
Vaccinum anaemiae infectivae pulli vivum	(2038)	Infectious chicken anaemia vaccine (live)	Vaccin vivant de l'anémie infectieuse du poulet	Vaccino vivo dell'anemia infettiva dei polli
Vaccinum anthracis vivum ad usum veterinarium	(0441)	Anthrax spore vaccine (live) for veterinary use	Vaccin vivant sporulé de la fièvre charbonneuse pour usage vétérinaire	Vaccino vivo del carbonchio per uso veterinario
Vaccinum aptharum epizooticarum inactivatum ad ruminantes	(0063)	Foot-and-mouth disease (ruminants) vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la fièvre aphteuse pour ruminants	Vaccino inattivato dell'aftha epizootica dei ruminanti
Vaccinum bronchitidis infectivae aviariae inactivatum	(0959)	Avian infectious bronchitis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la bronchite infectieuse aviaire	Vaccino inattivato della bronchite infettiva aviaria
Vaccinum bronchitidis infectivae aviariae vivum	(0442)	Avian infectious bronchitis vaccine (live)	Vaccin vivant de la bronchite infectieuse aviaire	Vaccino vivo della bronchite infettiva aviaria
Vaccinum brucellosis (Brucella melitensis stirpe rev. 1) vivum ad usum veterinarium	(0793)	Brucellosis vaccine (live) (Brucella melitensis rev. 1 strain), for veterinary use	Vaccin vivant de la brucellose (Brucella melitensis souche rev. 1) pour usage vétérinaire	Vaccino vivo della brucellosi (Brucella melitensis ceppo rev. 1) per uso veterinario
Vaccinum bursitidis infectivae aviariae inactivatum	(0960)	Avian infectious bursal disease vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la bursite infectieuse aviaire	Vaccino inattivato della bursite infettiva aviaria
Vaccinum bursitidis infectivae aviariae vivum	(0587)	Avian infectious bursal disease vaccine (live)	Vaccin vivant de la bursite infectieuse aviaire	Vaccino vivo della bursite infettiva aviaria
Vaccinum calicivirosideis felinae inactivatum	(1101)	Feline calicivirosideis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la calicivirose du chat	Vaccino inattivato dell'infezione da calicivirus del gatto
Vaccinum calicivirosideis felinae vivum	(1102)	Feline calicivirosideis vaccine (live)	Vaccin vivant de la calicivirose du chat	Vaccino vivo dell'infezione da calicivirus del gatto
Vaccinum chlamydiosis felinae inactivatum	(2324)	Feline chlamydiosis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la chlamydiose du chat	Vaccino inattivato della clamidiosi del gatto
Vaccinum cholerae aviariae inactivatum	(1945)	Fowl cholera vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé du cholera aviaire	Vaccino inattivato del colera aviario
Vaccinum clostridii botulini ad usum veterinarium	(0360)	Clostridium botulinum vaccine for veterinary use	Vaccin botulinique pour usage vétérinaire	Vaccino da Clostridium botulinum per uso veterinario
Vaccinum clostridii chauvoei ad usum veterinarium	(0361)	Clostridium chauvoei vaccine for veterinary use	Vaccin de clostridium chauvoei pour usage vétérinaire	Vaccino da Clostridium chauvoei per uso veterinario
Vaccinum clostridii novyi B ad usum veterinarium	(0362)	Clostridium novyi (type B) vaccine for veterinary use	Vaccin de clostridium novyi (type B) pour usage vétérinaire	Vaccino da Clostridium novyi (tipo B) per uso veterinario

Vaccinum clostridii perfringentis ad usum veterinarium	(0363)	Clostridium perfringens vaccine for veterinary use	Vaccin de clostridium perfringens pour usage vétérinaire	Vaccino da Clostridium perfringens per uso veterinario
Vaccinum clostridii septici ad usum veterinarium	(0364)	Clostridium septicum vaccine for veterinary use	Vaccin de clostridium septicum pour usage vétérinaire	Vaccino da Clostridium septicum per uso veterinario
Vaccinum colibacillosis fetus a partu recentis inactivatum ad ruminantes	(0961)	Neonatal ruminant colibacillosis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la colibacillose néonatale des ruminants	Vaccino inattivato della colibacillosi neonatale dei ruminanti
Vaccinum colibacillosis fetus a partu recentis inactivatum ad suem	(0962)	Neonatal piglet colibacillosis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la colibacillose néonatale des porcelets	Vaccino inattivato della colibacillosi neonatale del suino
Vaccinum diarrhoeae viralis bovinae inactivatum	(1952)	Bovine viral diarrhoea vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la diarrhée virale bovine	Vaccino inattivato della diarrea virale bovina
Vaccinum encephalomyelitis infectivae aviariae vivum	(0588)	Avian infectious encephalomyelitis vaccine (live)	Vaccin vivant de l'encéphalomyélite infectieuse aviaire	Vaccino vivo dell'encefalomielite infettiva aviaria
Vaccinum erysipelatis suillae inactivatum	(0064)	Swine erysipelas vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé du rouget du porc	Vaccino inattivato del malrosso del suino
Vaccinum furunculosis ad salmonidas inactivatum cum adiuvatione oleosa ad iniectionem	(1521)	Furunculosis vaccine (inactivated, oil-adjuvanted, injectable) for salmonids	Vaccin inactivé, injectable, à adjuvant huileux, de la furunculose des salmonidés	Vaccino inattivato della forunculosi dei salmonidi preparazione iniettabile con adiuvante oleoso
Vaccinum hepatitis viralis anatis stirpe I vivum	(1315)	Duck viral hepatitis type I vaccine (live)	Vaccin vivant de l'hépatite virale du canard type I	Vaccino vivo dell'epatite virale tipo I dell'anatra
Vaccinum herpesvirus equini inactivatum	(1613)	Equine herpesvirus vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de l'herpèsvirus équin	Vaccino inattivato dell'infezione da herpesvirus equino
Vaccinum inactivatum diarrhoeae vituli coronaviro illatae	(1953)	Calf coronavirus diarrhoea vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé des diarrhées à coronavirus des veaux	Vaccino inattivato della diarrea da coronavirus dei vitelli
Vaccinum inactivatum diarrhoeae vituli rotaviro illatae	(1954)	Calf rotavirus diarrhoea vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé des diarrhées à rotavirus des veaux	Vaccino inattivato della diarrea da rotavirus dei vitelli
Vaccinum influenzae equi inactivatum	(0249)	Equine influenza vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la grippe équine	Vaccino inattivato dell'influenza equina
Vaccinum influenzae inactivatum ad suem	(0963)	Porcine influenza vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la grippe porcine	Vaccino inattivato dell'influenza suina
Vaccinum laryngotracheitidis infectivae aviariae vivum	(1068)	Avian infectious laryngotracheitis vaccine (live)	Vaccin vivant de la laryngotrachéite infectieuse aviaire	Vaccino vivo della laringotracheite infettiva aviaria
Vaccinum leptospirosis bovinae inactivatum	(1939)	Bovine leptospirosis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la leptospirose bovine	Vaccino inattivato della leptospirosi bovina
Vaccinum leptospirosis caninae inactivatum	(0447)	Canine leptospirosis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la leptospirose canine	Vaccino inattivato della leptospirosi canina
Vaccinum leucosis felinae inactivatum	(1321)	Feline leukaemia vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la leucose féline	Vaccino inattivato della leucosi felina
Vaccinum mannheimiae inactivatum ad bovinas	(1944)	Mannheimia vaccine (inactivated) for cattle	Vaccin inactivé de la mannheimiose bovine	Vaccino inattivato della Mannheimia haemolytica per bovini
Vaccinum mannheimiae inactivatum ad ovem	(1946)	Mannheimia vaccine (inactivated) for sheep	Vaccin inactivé de la mannheimiose des moutons	Vaccino inattivato della Mannheimia haemolytica per ovini
Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem inactivatum	(0744)	Aujeszky's disease vaccine (inactivated) for pigs	Vaccin inactivé de la maladie d'Aujeszky pour le porc	Vaccino inattivato della malattia di Aujeszky per il suino
Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem vivum ad usum parenteralem	(0745)	Aujeszky's disease vaccine (live) for pigs for parenteral administration	Vaccin vivant de la maladie d'Aujeszky pour le porc pour administration parentérale	Vaccino vivo della malattia di Aujeszky per il suino per uso parenterale

Vaccinum morbi Carrei vivum ad canem	(0448)	Canine distemper vaccine (live)	Vaccin vivant de la maladie de Carré pour le chien	Vaccino vivo del cimurro per il cane
Vaccinum morbi Carrei vivum ad mustelidas	(0449)	Distemper vaccine (live) for mustelids	Vaccin vivant de la maladie de Carré pour mustélidés	Vaccino vivo del cimurro per mustelidi
Vaccinum morbi haemorrhagici cuniculi inactivatum	(2325)	Rabbit haemorrhagic disease vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la maladie hémorragique du lapin	Vaccino inattivato della malattia emorragica del coniglio
Vaccinum morbi Marek vivum	(0589)	Marek's disease vaccine (live)	Vaccin vivant de la maladie de Marek	Vaccino vivo della malattia di Marek
Vaccinum morbi partus diminutionis MCMLXXVI inactivatum ad pullum	(1202)	Egg drop syndrome '76 vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la maladie des œufs hardés	Vaccino inattivato della malattia del calo della deposizione delle uova
Vaccinum Mycoplasmatis galliseptici inactivatum	(1942)	Mycoplasma gallisepticum vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de mycoplasma gallisepticum	Vaccino inattivato del <i>Mycoplasma gallisepticum</i>
Vaccinum myxomatosis vivum ad cuniculum	(1943)	Myxomatosis vaccine (live) for rabbits	Vaccin vivant de la myxomatose pour le lapin	Vaccino vivo della mixomatosi dei conigli
Vaccinum panleucopeniae felinae infectivae inactivatum	(0794)	Feline infectious enteritis (feline panleucopenia) vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la panleucopénié infectieuse du chat	Vaccino inattivato della panleucopenia infettiva dei felini
Vaccinum panleucopeniae felinae infectivae vivum	(0251)	Feline infectious enteritis (feline panleucopenia) vaccine (live)	Vaccin vivant de la panleucopénié infectieuse du chat	Vaccino vivo della panleucopenia infettiva dei felini
Vaccinum parainfluenzae viri canini vivum	(1955)	Canine parainfluenza virus vaccine (live)	Vaccin vivant du virus parainfluenza canin	Vaccino vivo del virus della parainfluenza canina
Vaccinum paramyxovirus 3 aviarii inactivatum	(1392)	Avian paramyxovirus 3 vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé du paramyxovirus aviaire 3	Vaccino inattivato dell'infezione da paramixovirus 3 aviario
Vaccinum parvovirus caninae inactivatum	(0795)	Canine parvovirus vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la parvovirose canine	Vaccino inattivato della parvovirose del cane
Vaccinum parvovirus caninae vivum	(0964)	Canine parvovirus vaccine (live)	Vaccin vivant de la parvovirose canine	Vaccino vivo della parvovirose del cane
Vaccinum parvovirus inactivatum ad suem	(0965)	Porcine parvovirus vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la parvovirose porcine	Vaccino inattivato della parvovirose del suino
Vaccinum pasteurellae inactivatum ad ovem	(2072)	Pasteurella vaccine (inactivated) for sheep	Vaccin inactivé de la pasteurellose des moutons	Vaccino inattivato della pasteurellosi per ovini
Vaccinum pestis anatis vivum	(1938)	Duck plague vaccine (live)	Vaccin vivant de la peste du canard	Vaccino vivo della peste delle anatre
Vaccinum pestis classicae suillae vivum cryodesiccatum	(0065)	Swine-fever vaccine (live), classical, freeze-dried	Vaccin vivant cryodesséché de la peste porcine classique	Vaccino vivo liofilizzato della peste suina classica
Vaccinum pseudopestis aviariae inactivatum	(0870)	Newcastle disease vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la pseudopeste aviaire (maladie de Newcastle)	Vaccino inattivato della pseudopeste aviaria (malattia di Newcastle)
Vaccinum pseudopestis aviariae vivum	(0450)	Newcastle disease vaccine (live)	Vaccin vivant de la pseudopeste aviaire (maladie de Newcastle)	Vaccino vivo della pseudopeste aviaria (malattia di Newcastle)
Vaccinum rabiei inactivatum ad usum veterinarium	(0451)	Rabies vaccine (inactivated) for veterinary use	Vaccin rabique inactivé pour usage vétérinaire	Vaccino inattivato della rabbia per uso veterinario
Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem	(0746)	Rabies vaccine (live, oral) for foxes	Vaccin vivant oral de la rage pour renards	Vaccino vivo della rabbia per la volpe per uso orale
Vaccinum rhinitidis atrophicantis ingravescentis suillae inactivatum	(1361)	Porcine progressive atrophic rhinitis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la rhinite atrophique progressive du porc	Vaccino inattivato della rinite atrofica progressiva del suino
Vaccinum rhinotracheitidis infectivae bovinae vivum	(0696)	Infectious bovine rhinotracheitis vaccine (live)	Vaccin vivant de la rhinotrachéite infectieuse bovine	Vaccino vivo della rinotracheite infettiva bovina
Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae inactivatum	(1207)	Feline viral rhinotracheitis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la rhinotrachéite virale du chat	Vaccino inattivato della rinotracheite virale del gatto
Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae vivum	(1206)	Feline viral rhinotracheitis vaccine (live)	Vaccin vivant de la rhinotrachéite virale du chat	Vaccino vivo della rinotracheite virale del gatto

Vaccinum Salmonellae Enteritidis inactivatum ad pullum	(1947)	Salmonella enteritidis vaccine (inactivated) for chickens	Vaccinum inactivé de la salmonellose à Salmonella enteritidis pour le poulet	Vaccino inattivato della salmonellosi da <i>Salmonella enteritidis</i> per i polli
Vaccinum Salmonellae Typhimurium inactivatum ad pullum	(2361)	Salmonella typhimurium vaccine (inactivated) for chickens	Vaccinum inactivé de la salmonellose à Salmonella typhimurium pour le poulet	Vaccino inattivato della salmonellosi da <i>Salmonella typhimurium</i> per i polli
Vaccinum tenosynovitis viralis aviariae vivum	(1956)	Avian viral tenosynovitis vaccine (live)	Vaccin vivant de la ténosynovite virale aviaire	Vaccino vivo della tenosinovite virale aviaria
Vaccinum tetani ad usum veterinarium	(0697)	Tetanus vaccine for veterinary use	Vaccin tétanique pour usage vétérinaire	Vaccino tetanico per uso veterinario
Vaccinum variolae gallinae vivum	(0649)	Fowl-pox (live) vaccine	Vaccin vivant de la variole des gallinacés	Vaccino vivo del difterovaiolo aviario
Vaccinum vibriosidis ad salmonidas inactivatum	(1581)	Vibriosis vaccine (inactivated) for salmonids	Vaccin inactivé de la vibriose des salmonidés	Vaccino inattivato della vibriosi dei salmonidi
Vaccinum vibriosidis aquae frigidae inactivatum ad salmonidas	(1580)	Vibriosis (cold-water) vaccine (inactivated) for salmonids	Vaccin inactivé de la vibriose des eaux froides pour salmonidés	Vaccino inattivato della vibriosi d'acqua fredda dei salmonidi
Vaccinum viri parainfluenzae bovini vivum	(1176)	Bovine parainfluenza virus vaccine (live)	Vaccin vivant du virus parainfluenza bovin	Vaccino vivo del virus della parainfluenza bovina
Vaccinum viri syncytialis meatus spiritus bovini vivum	(1177)	Bovine respiratory syncytial virus vaccine (live)	Vaccin vivant du virus syncytial respiratoire bovin	Vaccino vivo del virus sinciziale respiratorio bovino

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Ammoniae (¹³ N) solutio iniectionis	(1492)	Ammonia (¹³ N) injection	Ammoniaque (¹³ N) (solution injectable d')	Ammoniaca (¹³ N) preparazione iniettabile
Aquae (¹⁵ O) solutio iniectionis	(1582)	Water (¹⁵ O) injection	Eau (¹⁵ O) injectable	Acqua (¹⁵ O) preparazione iniettabile
Aquae tritiatae (³ H) solutio iniectionis	(0112)	Tritiated (³ H) water injection	Eau tritiée (³ H) (solution injectable d')	Acqua tritiata (³ H) preparazione iniettabile
Carbonei monoxidum (¹⁵ O)	(1607)	Carbon monoxide (¹⁵ O)	Carbone (monoxyde (¹⁵ O) de)	Carbonio monossido (¹⁵ O)
Chromii (⁵¹ Cr) edetatis solutio iniectionis	(0266)	Chromium (⁵¹ Cr) edetate injection	Chrome (⁵¹ Cr) (édétate de), solution injectable d'	Cromo (⁵¹ Cr) edetato preparazione iniettabile
Cyanocobalamini (⁵⁷ Co) capsulae	(0710)	Cyanocobalamin (⁵⁷ Co) capsules	Cyanocobalamine (⁵⁷ Co) (capsules de)	Cianocobalamina (⁵⁷ Co) capsule
Cyanocobalamini (⁵⁷ Co) solutio	(0269)	Cyanocobalamin (⁵⁷ Co) solution	Cyanocobalamine (⁵⁷ Co) (solution de)	Cianocobalamina (⁵⁷ Co) soluzione
Cyanocobalamini (⁵⁸ Co) capsulae	(1505)	Cyanocobalamin (⁵⁸ Co) capsules	Cyanocobalamine (⁵⁸ Co) (capsules de)	Cianocobalamina (⁵⁸ Co) capsule
Cyanocobalamini (⁵⁸ Co) solutio	(0270)	Cyanocobalamin (⁵⁸ Co) solution	Cyanocobalamine (⁵⁸ Co) (solution de)	Cianocobalamina (⁵⁸ Co) soluzione
Fludeoxyglucosi (¹⁸ F) solutio iniectionis	(1325)	Fludeoxyglucose (¹⁸ F) injection	Fludésoxyglucose (¹⁸ F) (solution injectable de)	Fludesossiglucosio (¹⁸ F) preparazione iniettabile
Flumazenil (<i>N</i> -[¹¹ C]methyl) solutio iniectionis	(1917)	Flumazenil (<i>N</i> -[¹¹ C]methyl) injection	Flumazenil (<i>N</i> -[¹¹ C]methyl) solution injectable de	Flumazenil (<i>N</i> -[¹¹ C]metile) preparazione iniettabile
Fluorodopae (¹⁸ F) ab electrophila substitutione solutio iniectionis	(1918)	Fluorodopa (¹⁸ F) (prepared by electrophilic substitution) injection	Fluorodopa (¹⁸ F) préparée par substitution électrophile (solution injectable de)	Fluorodopa (¹⁸ F) (preparata mediante sostituzione elettrofila) soluzione iniettabile
Gallii (⁶⁷ Ga) citratis solutio iniectionis	(0555)	Gallium (⁶⁷ Ga) citrate injection	Gallium (⁶⁷ Ga) (citrate de), solution injectable de	Gallio (⁶⁷ Ga) citrato preparazione iniettabile
Indii (¹¹¹ In) chloridi solutio	(1227)	Indium (¹¹¹ In) chloride solution	Indium (¹¹¹ In) (chlorure d'), solution de	Indio (¹¹¹ In) cloruro soluzione
Indii (¹¹¹ In) oxini solutio	(1109)	Indium (¹¹¹ In) oxine solution	Oxine indée (¹¹¹ In) (solution d')	Indio (¹¹¹ In) ossina soluzione
Indii (¹¹¹ In) pentetatis solutio iniectionis	(0670)	Indium (¹¹¹ In) pentetate injection	Indium (¹¹¹ In) (pentétate d'), solution injectable de	Indio (¹¹¹ In) pentetato preparazione iniettabile

Iobenguani (¹²³ I) solutio iniectionabilis	(1113)	Iobenguane (¹²³ I) injection	Iobenguane (¹²³ I) (solution injectable d')	Iobenguano (¹²³ I) preparazione iniettabile
Iobenguani (¹³¹ I) solutio iniectionabilis ad usum diagnosticum	(1111)	Iobenguane (¹³¹ I) injection for diagnostic use	Iobenguane (¹³¹ I) (solution injectable d') à usage diagnostique	Iobenguano (¹³¹ I) preparazione iniettabile per uso diagnostico
Iobenguani (¹³¹ I) solutio iniectionabilis ad usum therapeuticum	(1112)	Iobenguane (¹³¹ I) injection for therapeutic use	Iobenguane (¹³¹ I) (solution injectable d') à usage thérapeutique	Iobenguano (¹³¹ I) preparazione iniettabile per uso terapeutico
Iobenguani sulfas ad radiopharmaceutica	(2351)	Iobenguane sulphate for radiopharmaceutical preparations	Iobenguane (sulphate de) pour préparations radiopharmaceutiques	Iobenguano solfato per uso radiofarmaceutico
Iodinati (¹²⁵ I) humani albumini solutio iniectionabilis	(1922)	Human albumin injection, iodinated (¹²⁵ I)	Albumine humaine iodée (¹²⁵ I) (solution injectable d')	Albumina umana iodata (¹²⁵ I) preparazione iniettabile
Kryptonum (^{81m} Kr) ad inhalationem	(1533)	Krypton (^{81m} Kr) inhalation gas	Krypton (^{81m} Kr) (gaz pour inhalation)	Kripton (^{81m} Kr) gas per inalazione
L-Methionini ([¹¹ C]methyl) solutio iniectionabilis	(1617)	L-Methionine ([¹¹ C]methyl) injection	L-Méthionine ([¹¹ C]methyl) (solution injectable de)	L-Metionina ([¹¹ C]metile) preparazione iniettabile
Natrii acetatis ([¹¹ C]) solutio iniectionabilis	(1920)	Sodium acetate ([¹¹ C]) injection	Sodium (acétate [¹¹ C]de), solution injectable de	Sodio acetato ([¹¹ C]) preparazione iniettabile
Natrii chromatis (⁵¹ Cr) solutio sterilis	(0279)	Sodium chromate (⁵¹ Cr) sterile solution	Sodium (chromate (⁵¹ Cr) de), solution stérile de	Sodio cromato (⁵¹ Cr) soluzione sterile
Natrii fluoridi (¹⁸ F) solutio iniectionabilis	(2100)	Sodium fluoride (¹⁸ F) injection	Sodium (fluorure(¹⁸ F)de), solution injectable de	Sodio fluoruro (¹⁸ F) preparazione iniettabile
Natrii iodidi (¹²³ I) solutio ad radio-signandum	(2314)	Sodium iodide (¹²³ I) solution for radiolabelling	Sodium (iodure (¹²³ I) de) pour radiomarquage, solution d'	Sodio ioduro (¹²³ I) soluzione per radiomarcatura
Natrii iodidi (¹²³ I) solutio iniectionabilis	(0563)	Sodium iodide (¹²³ I) injection	Sodium (iodure (¹²³ I) de), solution injectable de	Sodio ioduro (¹²³ I) preparazione iniettabile
Natrii iodidi (¹³¹ I) capsulae ad usum diagnosticum	(0938)	Sodium iodide (¹³¹ I) capsules for diagnostic use	Sodium (iodure (¹³¹ I) de), à usage diagnostique, capsules d'	Sodio ioduro (¹³¹ I) capsule per uso diagnostico
Natrii iodidi (¹³¹ I) capsulae ad usum therapeuticum	(2116)	Sodium iodide (¹³¹ I) capsules for therapeutic use	Sodium (iodure (¹³¹ I) de) à usage thérapeutique, capsules d'	Sodio ioduro (¹³¹ I) capsule per uso terapeutico
Natrii iodidi (¹³¹ I) solutio	(0281)	Sodium iodide (¹³¹ I) solution	Sodium (iodure (¹³¹ I) de), solution d'	Sodio ioduro (¹³¹ I) soluzione
Natrii iodidi (¹³¹ I) solutio ad radio-signandum	(2121)	Sodium iodide (¹³¹ I) solution for radiolabelling	Sodium (iodure (¹³¹ I) de), solution pour radiomarquage	Sodio ioduro (¹³¹ I) soluzione per radiomarcatura
Natrii iodohippurati (¹²³ I) solutio iniectionabilis	(0564)	Sodium iodohippurate (¹²³ I) injection	Sodium (iodohippurate (¹²³ I) de), solution injectable d'	Sodio iodoippurato (¹²³ I) preparazione iniettabile
Natrii iodohippurati (¹³¹ I) solutio iniectionabilis	(0282)	Sodium iodohippurate (¹³¹ I) injection	Sodium (iodohippurate (¹³¹ I) de), solution injectable d'	Sodio iodoippurato (¹³¹ I) preparazione iniettabile
Natrii molybdati (⁹⁹ Mo) fissioni formati solutio	(1923)	Sodium molybdate (⁹⁹ Mo) solution (fission)	Sodium (molybdate (⁹⁹ Mo) de) obtenu par fission, solution de	Sodio molibdato (⁹⁹ Mo) soluzione (ottenuto per fissione)
Natrii pertechnetatis (^{99m} Tc) fissioni formati solutio iniectionabilis	(0124)	Sodium pertechnetate (^{99m} Tc) injection (fission)	Sodium (pertechnétate (^{99m} Tc) de, obtenu par fission), solution injectable de	Sodio pertecnetato (^{99m} Tc) ottenuto per fissione preparazione iniettabile
Natrii pertechnetatis (^{99m} Tc) sine fissioni formati solutio iniectionabilis	(0283)	Sodium pertechnetate (^{99m} Tc) injection (non-fission)	Sodium (pertechnétate (^{99m} Tc) de, non obtenu par fission), solution injectable de	Sodio pertecnetato (^{99m} Tc) non ottenuto per fissione preparazione iniettabile
Natrii phosphatis (³² P) solutio iniectionabilis	(0284)	Sodium phosphate (³² P) injection	Sodium (phosphate (³² P) de), solution injectable de	Sodio fosfato (³² P) preparazione iniettabile
Norcholesteroli iodinati (¹³¹ I) solutio iniectionabilis	(0939)	Norcholesterol injection, iodinated (¹³¹ I)	Norcholestérol iodé (¹³¹ I) (solution injectable de)	Norcolesterolo iodato (¹³¹ I) preparazione iniettabile

Oxygenium (¹⁵ O)	(1620)	Oxygen (¹⁵ O)	Oxygène (¹⁵ O)	Ossigeno (¹⁵ O)
Raclopridi ([¹¹ C]methoxy) solutio iniectionabilis	(1924)	Raclopride ([¹¹ C]methoxy) injection	Raclopride ([¹¹ C] methoxy) solution injectable de	Raclopride ([¹¹ C]metossi) preparazione iniettabile
Rhenii sulfidi colloidalis et technetii (^{99m} Tc) solutio iniectionabilis	(0126)	Technetium (^{99m} Tc) colloidal rhenium sulphide injection	Technétium (^{99m} Tc) (sulfure de rhénium colloïdal et de), solution injectable de	Renio solfuro colloidale e tecnezio (^{99m} Tc) preparazione iniettabile
Stanni colloidalis et technetii (^{99m} Tc) solutio iniectionabilis	(0689)	Technetium (^{99m} Tc) colloidal tin injection	Technétium (^{99m} Tc) (étain colloïdal et de), solution injectable d'	Stagno colloidale e tecnezio (^{99m} Tc) preparazione iniettabile
Stanni pyrophosphatis et technetii (^{99m} Tc) solutio iniectionabilis	(0129)	Technetium (^{99m} Tc) tin pyrophosphate injection	Technétium (^{99m} Tc) (pyrophosphate d'étain et de), solution injectable de	Stagno pirofosfato e tecnezio (^{99m} Tc) preparazione iniettabile
Strontii (⁸⁹ Sr) chloridi solutio iniectionabilis	(1475)	Strontium (⁸⁹ Sr) chloride injection	Strontium (⁸⁹ Sr) (chlorure de), solution injectable de	Stronzio (⁸⁹ Sr) cloruro preparazione iniettabile
Sulfuris colloidalis et technetii (^{99m} Tc) solutio iniectionabilis	(0131)	Technetium (^{99m} Tc) colloidal sulphur injection	Technétium (^{99m} Tc) (soufre colloïdal et de), solution injectable de	Zolfo colloidale e tecnezio (^{99m} Tc) preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) bicisati solutio iniectionabilis	(2123)	Technetium (^{99m} Tc) bicisate injection	Technétium (^{99m} Tc) (bici-sate-) solution injectable de	Tecnetio (^{99m} Tc) bicisato preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) et etifenini solutio iniectionabilis	(0585)	Technetium (^{99m} Tc) etifenin injection	Technétium (^{99m} Tc) (étifé-nine-), solution injectable d'	Tecnezio (^{99m} Tc) e etifenina preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) exame-tazimi solutio iniectionabilis	(1925)	Technetium (^{99m} Tc) exametazime injection	Technétium (^{99m} Tc) (examé-tazime-) solution injectable d'	Tecnezio (^{99m} Tc) esametazima preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) gluconatis solutio iniectionabilis	(1047)	Technetium (^{99m} Tc) gluconate injection	Technétium (^{99m} Tc) (gluconate-), solution injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) gluconato preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) humani albumini solutio iniectionabilis	(0640)	Technetium (^{99m} Tc) human albumin injection	Technétium (^{99m} Tc) (albumine humaine-), solution injectable d'	Tecnezio (^{99m} Tc) albumina umana preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) macrosalbi suspensio iniectionabilis	(0296)	Technetium (^{99m} Tc) macrosalb injection	Technétium (^{99m} Tc) (macrosalb-), suspension injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) macrosalb sospensione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) medronati solutio iniectionabilis	(0641)	Technetium (^{99m} Tc) medronate injection	Technétium (^{99m} Tc) (médrionate-), solution injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) medronato preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) mertiatidi solutio iniectionabilis	(1372)	Technetium (^{99m} Tc) mertiatide injection	Technétium (^{99m} Tc) (mertiatide-), solution injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) mertiatide preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) microsphaerarum suspensio iniectionabilis	(0570)	Technetium (^{99m} Tc) microspheres injection	Technétium (^{99m} Tc) (microsphères-), suspension injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) microsfere sospensione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) pentetatis solutio iniectionabilis	(0642)	Technetium (^{99m} Tc) pentetate injection	Technétium (^{99m} Tc) (pentétate-), solution injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) pentetato preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) sestamibi solutio iniectionabilis	(1926)	Technetium (^{99m} Tc) sestamibi injection	Technétium (^{99m} Tc) (sestamibi-) solution injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) sestamibi preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) succimeri solutio iniectionabilis	(0643)	Technetium (^{99m} Tc) succimer injection	Technétium (^{99m} Tc) (succimère-), solution injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) succimero preparazione iniettabile
Thallosi (²⁰¹ Tl) chloridi solutio iniectionabilis	(0571)	Thallous (²⁰¹ Tl) chloride injection	Thallium (²⁰¹ Tl) (chlorure de), solution injectable de	Taloso (²⁰¹ Tl) cloruro preparazione iniettabile
Xenoni (¹³³ Xe) solutio iniectionabilis	(0133)	Xenon (¹³³ Xe) injection	Xénon (¹³³ Xe) (solution injectable de)	Xenon (¹³³ Xe) preparazione iniettabile

SUTURE PER USO UMANO

	(90004)	Introduction	Introduction	Introduzione
Chorda resorbilis sterilis	(0317)	Catgut, sterile	Fils chirurgicaux, catgut stérile	Fili riassorbibili sterili (catgut)
Fila non resorbilia sterilia	(0324)	Sutures, sterile non-absorbable	Fils chirurgicaux, fils non résorbables stériles	Fili non riassorbibili sterili
Fila resorbilia syntetica monofilamenta sterilia	(0666)	Sutures, sterile synthetic absorbable monofilament	Fils chirurgicaux, fils résorbables synthétiques monofilaments stériles	Fili monofilamento riassorbibili sintetici sterili
Fila resorbilia syntetica torta sterilia	(0667)	Sutures, sterile synthetic absorbable braided	Fils chirurgicaux, fils résorbables synthétiques tressés stériles	Fili intrecciati riassorbibili sintetici sterili

SUTURE PER USO VETERINARIO

Chorda resorbilis sterilis in fuso ad usum veterinarium	(0660)	Catgut, sterile, in distributor for veterinary use	Fils chirurgicaux, catgut stérile en distributeur pour usage vétérinaire	Filo riassorbibile sterile per uso veterinario in distributore
Fila non resorbilia sterilia in fuso ad usum veterinarium	(0605)	Strands, sterile non-absorbable, in distributor for veterinary use	Fils chirurgicaux, fils non résorbables stériles en distri-buteur pour usage vétérinaire	Fili non riassorbibili sterili per uso veterinario in distributore
Filum bombycis tortum sterile in fuso ad usum veterinarium	(0606)	Poly(ethylene terephthalate) suture, sterile, in distributor for veterinary use	Fils chirurgicaux, soies tressées et stériles en distributeur pour usage vétérinaire	Fili di seta sterile per uso veterinario in distributore
Filum ethyleni polyterephthalici sterile in fuso ad usum veterinarium	(0607)	Poly(ethylene terephthalate) suture, sterile, in distributor for veterinary use	Fils chirurgicaux, fil de polytéréphthalate d'éthylène stérile en distributeur pour usage vétérinaire	Filo di polietilenetereftalato sterile per uso veterinario in distributore
Filum lini sterile in fuso ad usum veterinarium	(0608)	Linen thread, sterile, in distributor for veterinary use	Fils chirurgicaux, fil de lin stérile en distributeur pour usage vétérinaire	Filo di lino sterile per uso veterinario in distributore
Filum polyamidicum-6 sterile in fuso ad usum veterinarium	(0609)	Polyamide 6 suture, sterile, in distributor for veterinary use	Fils chirurgicaux, fil de polyamide-6 stérile en distributeur pour usage vétérinaire	Filo di poliammide-6 sterile per uso veterinario in distributore
Filum polyamidicum-6/6 sterile in fuso ad usum veterinarium	(0610)	Polyamide-6/6 suture, sterile, in distributor for veterinary use	Fils chirurgicaux, fil de polyamide 6/6 stérile en distributeur pour usage vétérinaire	Filo di poliammide-6/6 sterile per uso veterinario in distributore

PREPARAZIONI OMEOPATICHE

-	(90006)	Introduction	Introduction	Introduzione
Allium sativum ad praeparationes homoeopathicas	(2023)	Garlic for homoeopathic preparations	Ail pour préparations homéopathiques	Aglio per preparazioni omeopatiche
Apis mellifera ad praeparationes homoeopathicas	(2024)	Honey bee for homoeopathic preparations	Abeille domestique pour préparations homéopathiques	Ape domestica per preparazioni omeopatiche
Arsenii trioxidum ad praeparationes homoeopathicas	(1599)	Arsenious trioxide for homoeopathic preparations	Arsénieux (anhydride) pour préparations homéopathiques	Arsenioso triossido per preparazioni omeopatiche
Barii chloridum dihydricum ad praeparationes homoeopathicas	(2142)	Barium chloride dihydrate for homoeopathic preparations	Barium (chlorure de) dihydraté pour préparations homéopathiques	Bario cloruro diidrato per preparazioni omeopatiche
Cadmii sulfas hydricus ad praeparationes homoeopathicas	(2143)	Cadmium sulphate hydrate for homoeopathic preparations	Cadmium (sulfate de) hydraté pour préparations homéopathiques	Cadmio solfato idrato per preparazioni omeopatiche

Calcii iodidum tetrahydricum ad praeparationes homoeopathicas	(2144)	Calcium iodide tetrahydrate for homoeopathic preparations	Calcium (iodure de) tétrahydraté pour préparations homéopathiques	Calcio tetraidrato per preparazioni omeopatiche
Croci stigma ad praeparationes homoeopathicas	(1624)	Saffron for homoeopathic preparations	Safran pour préparations homéopathiques	Zafferano per preparazioni omeopatiche
Cupri acetate monohydricus ad praeparationes homoeopathicas	(2146)	Copper acetate monohydrate for homoeopathic preparations	Cuivre (acétate de) monohydraté pour préparations homéopathiques	Rame acetato monoidrato per preparazioni omeopatiche
Cuprum ad praeparationes homoeopathicas	(1610)	Copper for homoeopathic preparations	Cuivre pour préparations homéopathiques	Rame per preparazioni omeopatiche
Ferrum ad praeparationes homoeopathicas	(2026)	Iron for homoeopathic preparations	Fer pour préparations homéopathiques	Ferro per preparazioni omeopatiche
Hedera elix ad praeparationes homoeopathicas	(2092)	Hedera elix for homoeopathic preparations	Lierre grim pant pour préparations homéopathiques	Edera per preparazioni omeopatiche
Hyoscyamus niger ad praeparationes homoeopathicas	(2091)	Hyoscyamus for homoeopathic preparations	Jusquiamé noire pour préparations homéopathiques	Giusquiamo per preparazioni omeopatiche
Hypericum perforatum ad praeparationes homoeopathicas	(2028)	Hypericum for homoeopathic preparations	Millepertuis pour préparations homéopathiques	Iperico per preparazioni omeopatiche
Plantae medicinales ad praeparationes homoeopathicas	(2045)	Herbal drugs for homoeopathic preparations	Drogues végétales pour préparations homéopathiques	Piante medicinali per preparazioni omeopatiche
Praeparationes homoeopathicas	(1038)	Homoeopathic preparations	Préparations homéopathiques	Preparazioni omeopatiche
Semecarpus anacardium ad praeparationes homoeopathicas	(2094)	Oriental cashew for homoeopathic preparations	Anacardier d'Orient pour préparations homéopathiques	Anacardio orientale per preparazioni omeopatiche
Tincturae maternas ad praeparationes homoeopathicas	(2029)	Mother tinctures for homoeopathic preparations	Teintures mères pour préparations homéopathiques	Tinture madri per preparazioni omeopatiche
Urtica dioica ad praeparationes homoeopathicas	(2030)	Common stinging nettle for homoeopathic preparations	Ortie dioïque pour préparations homéopathiques	Urtica dioica per preparazioni omeopatiche
Via praeparandi stirpes homoeopathicas et potentificandi	(2371)	Methods of preparation of homoeopathic stocks and potentisation	Méthodes de préparation des souches homéopathiques et de déconcentration	Metodi di preparazione dei materiali di partenza omeopatici e diluizioni

II VOLUME MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Absinthii herba	(1380)	Wormwood	Absinthe	Assenzio
Acaciae gummi	(0307)	Acacia	Gomme arabique	Gomma arabica
Acaciae gummi dispersione desiccatum	(0308)	Acacia, spray-dried	Gomme arabique (nébulisé de)	Gomma arabica, liofilizzato
Acamprosatum calcicum	(1585)	Acamprosate calcium	Acamprosate calcique	Acamprosato calcico
Acarbosum	(2089)	Acarbose	Acarbose	Acarbosio
Acebutololi hydrochloridum	(0871)	Acebutolol hydrochloride	Acébutolol (chlorhydrate d')	Acebutololo cloridrato
Aceclofenacum	(1281)	Aceclofenac	Acéclofénac	Aceclofenac
Acesulfamum kalicum	(1282)	Acesulfame potassium	Acésulfame potassique	Acesulfame potassico
Acetazolamidum	(0454)	Acetazolamide	Acétazolamide	Acetazolamide
Acetonum	(0872)	Acetone	Acétone	Acetone
Acetylcholini chloridum	(1485)	Acetylcholine chloride	Acétylcholine (chlorure d')	Acetilcolina cloruro
Acetylcysteinum	(0967)	Acetylcysteine	Acétylcysteine	Acetilcisteina
β-Acetyldigoxinum	(2168)	β-Acetyldigoxin	β-Acétyldigoxine	β-Acetilidossina
N-Acetyltyrosinum	(1384)	N-Acetyltyrosine	N-Acétyltyrosine	N-Acetil tirosina
N-Acetyltryptophanum	(1383)	N-Acetyltryptophan	N-Acétyltryptophane	N-Acetil triptofano
Aciclovirum	(0968)	Aciclovir	Aciclovir	Aciclovir

Acidi methacrylici et methylis methacrylas polymerisatum 1:1	(1127)	Methacrylic acid – methyl methacrylate copolymer (1:1)	Copolymère d'acide méthacrylique et de méthacrylate de méthyle (1:1)	Acido metacrilico – metile metacrilato copolimero (1:1)
Acidi methacrylici et ethylis acrylas polymerisati 1:1 dispersio 30 per centum	(1129)	Methacrylic acid – ethyl acrylate copolymer (1:1) dispersion 30 per cent	Copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle (1:1) (dispersion de) à 30 pour cent	Acido metacrilico – etile acrilato copolimero (1:1) dispersione 30 per cento
Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisatum 1:1	(1128)	Methacrylic acid – ethyl acrylate copolymer (1:1)	Copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle (1:1)	Acido metacrilico – etile acrilato copolimero (1:1)
Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum 1:2	(1130)	Methacrylic acid – methyl methacrylate copolymer (1:2)	Copolymère d'acide méthacrylique et de méthacrylate de méthyle (1:2)	Acido metacrilico – metile metacrilato copolimero (1:2)
Acidum (S)-lacticum	(1771)	(S)-Lactic acid	(S)-Lactique (acide)	Acido (S)-lattico
Acidum 4-amino-benzoicum	(1687)	4-Aminobenzoic acid	Acide 4-aminobenzoïque	Acido 4-aminobenzoico
Acidum aceticum glaciale	(0590)	Acetic acid, glacial	Acétique glaciale (acide)	Acido acetico glaciale
Acidum acetylsalicylicum	(0309)	Acetylsalicylic acid	Acétylsalicylique (acide)	Acido acetilsalicilico
Acidum adipicum	(1586)	Adipic acid	Acide adipique	Acido adipico
Acidum alginicum	(0591)	Alginic acid	Acide alginique	Acido alginico
Acidum amidotrizoicum dihydricum	(0873)	Amidotrizoic acid dihydrate	Acide amidotrizoïque dihydrate	Acido amidotrizoico diidrato
Acidum aminocaproicum	(0874)	Aminocaproic acid	Acide aminocaproïque	Acido aminocaproico
Acidum ascorbicum	(0253)	Ascorbic acid	Acide ascorbique	Acido ascorbico
Acidum asparticum	(0591)	Aspartic acid	Acide aspartique	Acido aspartico
Acidum benzoicum	(0066)	Benzoic acid	Acide benzoïque	Acido benzoico
Acidum boricum	(0001)	Boric acid	Acide borique	Acido borico
Acidum caprylicum	(1401)	Caprylic acid	Acide caprilique	Acido caprilico
Acidum chenodeoxycholicum	(1189)	Chenodeoxycholic acid	Chénodésoxycholique (acide)	Acido chenodesossicolico
Acidum citricum anhydricum	(0455)	Citric acid, anhydrous	Acide citrique anhydre	Acido citrico anidro
Acidum citricum monohydricum	(0456)	Citric acid, monohydrate	Acide citrique monohydraté	Acido citrico monoidrato
Acidum edeticum	(1612)	Edetic acid	Acide édetique	Acido edetico
Acidum etacrynicum	(0457)	Etacrynic acid	Acide étacrynique	Acido etacrinico
Acidum folicum	(0067)	Folic acid	Acide folique	Acido folico
Acidum fusidicum	(0798)	Fusidic acid	Acide fusidique	Acido fusidico
Acidum glutamicum	(0750)	Glutamic acid	Glutamique (acide)	Acido glutammico
Acidum hydrochloridum concentratum	(0002)	Hydrochloric acid, concentrated	Acide chlorhydrique concentré	Acido cloridrico concentrato
Acidum hydrochloridum dilutum	(0003)	Hydrochloric acid, dilute	Acide chlorhydrique dilué	Acido cloridrico diluito
Acidum iopanoicum	(0700)	Iopanoic acid	Iopanoïque (acide)	Acido iopanoico
Acidum iotalamicum	(0751)	Iotalamic acid	Iotalamique (acide)	Acido iotalamico
Acidum ioxaglicum	(2009)	Ioxaglic acid	Ioxaglique (acide)	Acido ioxaglico
Acidum lacticum	(0458)	Lactic acid	Lactique (acide)	Acido lattico
Acidum lactobionicum	(1647)	Lactobionic acid	Lactobionique (acide)	Acido lattobionico
Acidum maleicum	(0365)	Maleic acid	Maléique (acide)	Acido maleico
Acidum malicum	(2080)	Malic acid	Malique (acide)	Acido malico
Acidum mefenamicum	(1240)	Mefenamic acid	Méfénamique (acide)	Acido mefenamico
Acidum nalidixicum	(0701)	Nalidixic acid	Nalidixique (acide)	Acido nalidixico
Acidum nicotinicum	(0459)	Nicotinic acid	Nicotinique (acide)	Acido nicotinicco
Acidum nitricum	(1549)	Nitric acid	Nitrique (acide)	Acido nitrico
Acidum oleicum	(0799)	Oleic acid	Oléique (acide)	Acido oleico
Acidum oxolinicum	(1353)	Oxolinic acid	Oxolinique (acide)	Acido oxolinico
Acidum palmiticum	(1904)	Palmitic acid	Palmitique (acide)	Acido palmitico
Acidum phosphoricum concentratum	(0004)	Phosphoric acid, concentrated	Phosphorique (acide) concentré	Acido fosforico concentrato

Acidum phosphoricum dilutum	(0005)	Phosphoric acid, dilute	Phosphorique (acide) dilué	Acido fosforico diluito
Acidum pipemidicum trihydricum	(1743)	Pipemidic acid trihydrate	Pipémidique (acide) trihydraté	Acido pipemidico tridrato
Acidum salicylicum	(0366)	Salicylic acid	Salicylique (acide)	Acido salicilico
Acidum sorbicum	(0592)	Sorbic acid	Sorbique (acide)	Acido sorbico
Acidum stearicum	(1474)	Stearic acid	Stéarique (acide)	Acido stearico
Acidum sulfuricum	(1572)	Sulphuric acid	Sulfurique (acide)	Acido solforico
Acidum tartaricum	(0460)	Tartaric acid	Tartrique (acide)	Acido tartarico
Acidum thiocticum	(1648)	Thioctic acid	Thioctique (acide)	Acido tiottico
Acidum tiaprofenicum	(1157)	Tiaprofenic acid	Tiaprofénique (acide)	Acido tiaprofenico
Acidum tolfenamicum	(2039)	Tolfenamic acid	Tolfenamique (acide)	Acido tolfenamico
Acidum tranexamicum	(0875)	Tranexamic acid	Tranexamique (acide)	Acido tranexamico
Acidum trichloroaceticum	(1967)	Trichloroacetic acid	Trichloracétique (acide)	Acido tricloraacetico
Acidum undecylenicum	(0461)	Undecylenic acid	Undécylénique (acide)	Acido undecilenico
Acidum ursodeoxycholicum	(1275)	Ursodeoxycholic acid	Ursodésoxycholique (acide)	Acido ursodesossicolico
Acidum valproicum	(1378)	Valproic acid	Valproïque (acide)	Acido valproico
Acitretinum	(1385)	Acitretin	Acitrétine	Acitretina
Adeninum	(0800)	Adenine	Adénine	Adenina
Adeps lanae	(0134)	Wool fat	Graisse de laine	Lanolina
Adeps lanae cum aqua	(0135)	Wool fat, hydrous	Graisse de laine hydratée	Lanolina idrata
Adeps lanae hydrogenatus	(0969)	Wool fat, hydrogenated	Graisse de laine hydrogénée	Lanolina idrogenata
Adeps solidus	(0462)	Hard fat	Glycérides hémi-synthétiques solides	Gliceridi semisintetici solidi
Adrenalini tartras	(0254)	Adrenaline tartrate	Adrénaline (tartrate d')	Adrenalina tartrato
Aer medicinalis	(1238)	Air, medicinal	Air médicinal	Aria medicinale
Aer medicinalis artificiosus	(1684)	Air, synthetic medicinal	Air médicinal reconstitué	Aria medicinale sintetica
Aether	(0650)	Ether	Éther	Etere
Aether anaestheticus	(0367)	Ether, anaesthetic	Éther anesthésique	Etere per anestesia
Agar	(0310)	Agar	Agar-agar	Agar
Agni casti fructus	(2147)	Agnus castus fruit	Gattilier (fruit de)	Agnocasto frutto
Agrimoniae herba	(1587)	Agrimony	Aigremoine	Agrimonia
Alaninum	(0752)	Alanine	Alanine	Alanina
Albendazolium	(1386)	Albendazole	Albendazole	Albendazolo
Albumini humani solutio	(0255)	Human albumin solution	Albumine humaine (solution d')	Albumina umana soluzione
Alchemillae herba	(1387)	Alchemilla	Alchémille	Alchemilla
Alcohol benzylicus	(0256)	Benzyl alcohol	Benzylque (alcool)	Alcool benzilico
Alcohol cetylicus	(0540)	Cetyl alcohol	Cétylique (alcool)	Alcool cetilico
Alcohol cetylicus et stearylicus	(0702)	Cetostearyl alcohol	Cétostéarylique (alcool)	Alcool cetostearilico
Alcohol cetylicus et stearylicus emulsificans A	(0801)	Cetostearyl alcohol (type A), emulsifying	Cétostéarylique (alcool) émulsifiant (type A)	Alcool cetostearilico emulsionante (tipo A)
Alcohol cetylicus et stearylicus emulsificans B	(0802)	Cetostearyl alcohol (type B), emulsifying	Cétostéarylique (alcool) émulsifiant (type B)	Alcool cetostearilico emulsionante (tipo B)
Alcohol isopropylicus	(0970)	Isopropyl alcohol	Isopropylique (alcool)	Alcool isopropilico
Alcohol oleicus	(2073)	Oleyl alcohol	Alcool oléique	Alcool oleico
Alcohol stearylicus	(0753)	Stearyl alcohol	Stéarylique (alcool)	Alcool stearilico
Alcoholes adipis lanae	(0593)	Wool alcohols	Alcools de graisse de laine	Alcooli di lanolina
Alcuronii chloridum	(1285)	Alcuronium chloride	Alcuronium (chlorure d')	Alcuronio cloruro
Alfacalcidolum	(1286)	Alfacalcidol	Alfacalcidol	Alfacalcidolo
Alfadexum	(1487)	Alfadex	Alfadex	Alfadex
Alfentanili hydrochloridum	(1062)	Alfentanil hydrochloride	Alfentanil (chlorhydrate d')	Alfentanil cloridrato
Alfuzosini hydrochloridum	(1287)	Alfuzosin hydrochloride	Alfuzosine (chlorhydrate d')	Alfuzosina cloridrato
Allantoinum	(1288)	Allantoin	Allantoïne	Allantoina
Allii sativi bulbi pulvis	(1216)	Garlic powder	Ail (poudre d')	Aglia polvere
Allopurinolum	(0576)	Allopurinol	Allopurinol	Allopurinolo
Almagatum	(2010)	Almagate	Almagate	Almagato

Aloe barbadensis	(0257)	Aloes, Barbados	Aloès des Barbades	Aloe delle Barbados
Aloe capensis	(0258)	Aloes, Cape	Aloès du Cap	Aloe del Capo
Aloes extractum siccum normatum	(0259)	Aloes dry extract, standardised	Aloès (extrait sec titré d')	Aloe estratto secco titolato
Alprazolamum	(1065)	Alprazolam	Alprazolam	Alprazolam
Alprenololi hydrochloridum	(0876)	Alprenolol hydrochloride	Alprénolol (chlorhydrate d')	Alprenololo cloridrato
Alprostadilum	(1488)	Alprostadil	Alprostadil	Alprostadil
Alteplasm ad iniectionabile	(1170)	Alteplase for injection	Altéplase pour solution injectable	Alteplasi per preparazione iniettabile
Althaeae folium	(1856)	Marshmallow leaf	Guimauve (feuille de)	Altea foglia
Althaeae radix	(1126)	Marshmallow root	Guimauve (racine de)	Altea radice
Alumen	(0006)	Alum	Alun	Allume
Aluminii chloridum hexahydricum	(0971)	Aluminium chloride hexahydrate	Aluminium (chlorure d') hexahydraté	Alluminio magnesio silicato
Aluminii hydroxidum hydricum ad adsorptionem	(1664)	Aluminium hydroxide, hydrated, for adsorption	Aluminium (hydroxide d') hydraté pour adsorption	Alluminio ossido idrato
Aluminii magnesi silicas	(1388)	Aluminium magnesium silicate	Aluminium (silicate d') et de magnésium	Alluminio magnesio silicato
Aluminii oxidum hydricum	(0311)	Aluminium oxide, hydrated	Aluminium (oxyde d') hydraté	Alluminio ossido idrato
Aluminii phosphas hydricus	(1598)	Aluminium phosphate, hydrated	Aluminium (phosphate d') hydraté	Alluminio fosfato idrato
Aluminii phosphatis liquamen	(2166)	Aluminium phosphate gel	Aluminium (phosphate d'), gel de	Alluminio fosfato gel
Aluminii sulfas	(0165)	Aluminium sulphate	Aluminium (sulfate d')	Alluminio solfato
Alverini citras	(2156)	Alverine citrate	Alvérine (citrate d')	Alverina citrato
Amantadini hydrochloridum	(0463)	Amantadine hydrochloride	Amantadine (chlorhydrate d')	Amantadina cloridrato
Ambroxoli hydrochloridum	(1489)	Ambroxol hydrochloride	Ambroxol (chlorhydrate d')	Ambroxolo cloridrato
Amfetamini sulfas	(0368)	Amfetamine sulphate	Amfétamine (sulfate d')	Amfetamina solfato
Amikacini sulfas	(1290)	Amikacin sulphate	Amikacine (sulfate d')	Amikacina solfato
Amikacinum	(1289)	Amikacin	Amikacine	Amikacina
Amiloridi hydrochloridum	(0651)	Amiloride hydrochloride	Amiloride (chlorhydrate d')	Amiloride cloridrato
Aminoglutethimidum	(1291)	Aminoglutethimide	Aminoglutéthimide	Aminoglutetimide
Amiodaroni hydrochloridum	(0803)	Amiodarone hydrochloride	Amiodarone (chlorhydrate d')	Amiodarone cloridrato
Amisulpridum	(1490)	Amisulpride	Amisulpride	Amisulpride
Amitriptylini hydrochloridum	(0464)	Amitriptyline hydrochloride	Amitriptyline (chlorhydrate d')	Amitriptilina cloridrato
Amlodipini besilas	(1491)	Amlodipine besilate	Amlodipine (bésilate d')	Amlodipina besilato
Ammoniae solutio concentrata	(0877)	Ammonia solution, concentrated	Ammoniaque (solution concentrée d')	Ammoniaca soluzione concentrata
Ammonii bromidum	(1389)	Ammonium bromide	Ammonium (bromure d')	Ammonio bromuro
Ammonii chloridum	(0007)	Ammonium chloride	Ammonium (chlorure d')	Ammonio cloruro
Ammonii glycyrrhizas	(1772)	Ammonium glycyrrhizate	Ammonium (glycyrrhizate d')	Ammonio glicirrizato
Ammonii hydrogenocarbonas	(1390)	Ammonium hydrogen carbonate	Ammonium (bicarbonate d')	Ammonio bicarbonato
Ammonio methacrylatis copolymerum A	(2081)	Ammonio methacrylate copolymer (type A)	Ammonio méthacrylate (type A), copolymère	Ammonio metacrilato copolimero (tipo A)
Ammonio methacrylatis copolymerum B	(2082)	Ammonio methacrylate copolymer (type B)	Ammonio méthacrylate (type B), copolymère	Ammonio metacrilato copolimero (tipo B)
Amobarbitalum	(0594)	Amobarbital	Amobarbital	Amobarbital
Amobarbitalum natricum	(0166)	Amobarbital sodium	Amobarbital sodique	Amobarbital sodico
Amoxicillinum natricum	(0577)	Amoxicillin sodium	Amoxicilline sodique	Amoxicillina sodica
Amoxicillinum trihydricum	(0260)	Amoxicillin trihydrate	Amoxicilline trihydratée	Amoxicillina triidrata
Amphotericinum B	(1292)	Amphotericin B	Amphotéricine B	Amfotericina B
Ampicillinum anhydricum	(0167)	Ampicillin, anhydrous	Ampicilline anhydre	Ampicillina anidra

Ampicillinum natricum	(0578)	Ampicillin sodium	Ampicilline sodique	Ampicillina sodica
Ampicillinum trihydricum	(0168)	Ampicillin trihydrate	Ampicilline trihydratée	Ampicillina triidrata
Amygdalae oleum raffinatum	(1064)	Almond oil, refined	Amande (huile d') raffinée	Olio di mandorla raffinato
Amygdalae oleum virginale	(0261)	Almond oil, virgin	Amande (huile d') vierge	Olio di mandorla vergine
Amylum pregelificatum	(1267)	Starch, pregelatinised	Amidon pré-gélatinisé	Amido pregelatinizzato
Angelicae radix	(1857)	Angelica root	Angélique (racine d')	Angelica radice
Anisi aetheroleum	(0804)	Anise oil	Anis (huile essentielle d')	Anice essenza
Anisi fructus	(0262)	Aniseed	Anis (fruit d')	Anice frutto (Anice verde)
Anisi stellati aetheroleum	(2108)	Star anise oil	Badiane (huile essentielle de)	Anice stellato essenza
Anisi stellati fructus	(1153)	Star anise	Badiane	Anice stellato
Antazolini hydrochloridum	(0972)	Antazoline hydrochloride	Antazoline (chlorhydrate d')	Antazolina cloridrato
Antithrombinum III humanum densatum	(0878)	Human antithrombin III concentrate	Antithrombine III humaine (concentré d')	Antitrombina III umana concentrata
Apomorphini hydrochloridum	(0136)	Apomorphine hydrochloride	Apomorphine (chlorhydrate d')	Apomorfina cloridrato
Aprotinini solutio concentrata	(0579)	Aprotinin concentrated solution	Aprotinine (solution concentrée d')	Aprotinina soluzione concentrata
Aprotinum	(0580)	Aprotinin	Aprotinine	Aprotinina
Aqua ad dilutionem solutionium concentratarum ad haemodialysim	(1167)	Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting	Solutions concentrées pour hémodialyse (eau pour dilution des)	Acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi
Aqua ad iniectiones	(0169)	Water for injections	Eau pour préparations injectables	Acqua per preparazioni iniettabili
Aqua purificata	(0008)	Water, purified	Eau purifiée	Acqua depurata
Aqua valde purificata	(1927)	Water, highly purified	Eau hautement purifiée	Acqua altamente depurata
Arachidis oleum hydrogenatum	(1171)	Arachis oil, hydrogenated	Arachide (huile d') hydrogénée	Olio di arachidi idrogenato
Arachidis oleum raffinatum	(0263)	Arachis oil, refined	Arachide (huile d') raffinée	Olio di arachidi raffinato
Argentii nitras	(0009)	Silver nitrate	Argent (nitrate d')	Argento nitrato
Argentum colloidal ad usum externum	(2281)	Silver, colloidal, for external use	Argent colloïdal pour usage externe	Argento colloidale per uso esterno (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Arginini aspartas	(2096)	Arginine aspartate	Arginine (aspartate de)	Arginina aspartato
Arginini hydrochloridum	(0805)	Arginine hydrochloride	Arginine (chlorhydrate d')	Arginina cloridrato
Argininum	(0806)	Arginine	Arginine	Arginina
Arnicae flos	(1391)	Arnica flower	Arnica (fleur d')	Arnica fiore
Arnicae tinctura	(1809)	Arnica tincture	Arnica (teinture d')	Arnica tintura
Articaini hydrochloridum	(1688)	Articaine hydrochloride	Articaïne (chlorhydrate de)	Articaina cloridrato
Ascorbylis palmitas	(0807)	Ascorbyl palmitate	Ascorbyle (palmitate d')	Ascorbile palmitato
Asparaginum monohydricum	(2086)	Asparagine monohydrate	Asparagine monohydrate	Asparagina monidrato
Aspartamum	(0973)	Aspartame	Aspartam	Aspartame
Astemizolum	(1067)	Astemizole	Astémizole	Astemizolo
Atenololum	(0703)	Atenolol	Aténolol	Atenololo
Atracurii besilas	(1970)	Atracurium besilate	Atracurium (bésilate d')	Atracurio besilato (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Atropini sulfas	(0068)	Atropine sulphate	Atropine (sulfate d')	Atropina solfato
Atropinum	(2056)	Atropine	Atropine	Atropina
Aurantii amari epicarpium et mesocarpium tinctura	(1604)	Bitter-orange epicarp and mesocarp tincture	Orange amère (épicarpe et de mésocarpe d'), teinture d'	Arancia amara epicarpo e mesocarpo tintura
Aurantii amari epicarpium et mesocarpium	(1603)	Bitter-orange epicarp and mesocarp	Orange amère (épicarpe et mésocarpe d')	Arancia amara epicarpo e mesocarpo
Aurantii amari flos	(1810)	Bitter-orange flower	Oranger amer (fleur d')	Arancio amaro fiore

Aurantii dulcis aetheroleum	(1811)	Sweet orange oil	Orange douce (huile essentielle d')	Arancia dolce essenza <i>(sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)</i>
Azaperonum ad usum veterinarium	(1708)	Azaperone for veterinary use	Azapérone pour usage vétérinaire	Azaperone per uso veterinario
Azathioprinum	(0369)	Azathioprine	Azathioprine	Azatioprina
Azelastini hydrochloridum	(1633)	Azelastine hydrochloride	Azélastatine (chlorhydrate d')	Azelastina cloridrato
Azithromycinum	(1649)	Azithromycin	Azithromycine	Azitromicina
Bacampicillini hydrochloridum	(0808)	Bacampicillin hydrochloride	Bacampicilline (chlorhydrate de)	Bacampicillina cloridrato
Bacitracinum	(0465)	Bacitracin	Bacitracine	Bacitracina
Bacitracinum zincum	(0466)	Bacitracin zinc	Bacitracine-zinc	Bacitracina zinco
Baclofenum	(0653)	Baclofen	Baclofène	Baclofene
Ballotae nigrae herba	(1858)	Black horehound	Ballote noire	Ballota (Marrubio fetido)
Balsamum peruvianum	(0754)	Peru balsam	Baume du Pérou	Balsamo del Perù
Balsamum toltanum	(1596)	Tolu balsam	Baume de Tolu	Balsamo del Tolù
Bambuteroli hydrochloridum	(1293)	Bambuterol hydrochloride	Bambutérol (chlorhydrate de)	Bambuterolo cloridrato
Barbitalum	(0170)	Barbital	Barbital	Barbital
Barii sulfas	(0010)	Barium sulphate	Baryum (sulfate de)	Bario solfato
Beclometasoni dipropionas anhydricus	(0654)	Beclometasone dipropionate anhydrous	Béclométasone (dipropionate de) anhydre	Beclometasone dipropionato anidro
Beclometasoni dipropionas monohydricus	(1709)	Beclometasone dipropionate monohydrate	Béclométasone (dipropionate de) monohydraté	Beclometasone dipropionato monoidrato
Belladonnae folii extractum siccum normatum	(1294)	Belladonna leaf dry extract, standardised	Belladone (feuille de), extrait sec titré de	Belladonna foglia estratto secco titolato
Belladonnae folii tinctura normata	(1812)	Belladonna leaf tincture, standardised	Belladone (feuille de), teinture titré de	Belladonna foglia tintura titolata
Belladonnae folium	(0221)	Belladonna leaf	Belladone (feuille de)	Belladonna foglia
Belladonnae pulvis normatus	(0222)	Belladonna, prepared	Belladone (poudre titrée de)	Belladonna polvere titolata
Bendroflumethiazidum	(0370)	Bendroflumethiazide	Bendrofluméthiazide	Bendroflumetiazide
Benfluorexii hydrochloridum	(1601)	Benfluorex hydrochloride	Benfluorex (chlorhydrate de)	Benfluorex cloridrato
Benperidolum	(1172)	Benperidol	Benpéridol	Benperidolo
Benserazidi hydrochloridum	(1173)	Benserazide hydrochloride	Bensérazide (chlorhydrate de)	Benserazide cloridrato
Bentonitum	(0467)	Bentonite	Bentonite	Bentonite
Benzalkonii chloridi solutio	(0371)	Benzalkonium chloride solution	Benzalkonium (chlorure de), solution de	Benzalconio cloruro soluzione
Benzalkonii chloridum	(0372)	Benzalkonium chloride	Benzalkonium (chlorure de)	Benzalconio cloruro
Benzbromaronum	(1393)	Benzbromarone	Benzbromarone	Benzbromarone
Benzethonii chloridum	(0974)	Benzethonium chloride	Benzéthonium (chlorure de)	Benzetonio cloruro
Benzocainum	(0011)	Benzocaine	Benzocaïne	Benzocaina
Benzoe sumatranus	(1814)	Benzoin, Sumatra	Benjoin de Sumatra	Benzoino di Sumatra
Benzoe tonkinensis	(2158)	Benzoin, Siam	Benjoin du Laos	Benzoino del Laos <i>(sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)</i>
Benzois sumatranus tinctura	(1813)	Benzoin tincture, Sumatra	Benjoin de Sumatra (teinture de)	Benzoino di Sumatra tintura
Benzois tonkinensis tinctura	(2157)	Benzoin tincture, Siam	Benjoin du Laos (teinture de)	Benzoino del Laos tintura
Benzoylis peroxidum cum aqua	(0704)	Benzoyl peroxide, hydrous	Peroxyde de benzoyle hydraté	Benzoile perossido idrato
Benzylis benzoas	(0705)	Benzyl benzoate	Benzyle (benzoate de)	Benzile benzoato
Benzylpenicillinum benzathinum	(0373)	Benzylpenicillin, benzathine	Benzylpénicilline benzathine	Benzilpenicillina benzatinica
Benzylpenicillinum kalicum	(0113)	Benzylpenicillin potassium	Benzylpénicilline potassique	Benzilpenicillina potassica

Benzylpenicillinum natricum	(0114)	Benzylpenicillin sodium	Benzylpénicilline sodique	Benzilpenicillina sodica
Benzylpenicillinum procaïnium	(0115)	Benzylpenicillin, procaine	Benzylpénicilline procaine	Benzilpenicillina procainica
Betacarotenum	(1069)	Betacarotene	Bétacarotène	Betacarotene
Betadexum	(1070)	Betadex	Bétadex	Betadex
Betahistini dihydrochloridum	(1665)	Betahistine dihydrochloride	Bétahistine (dichlorhydrate de)	Betaistina dicloridrato
Betahistini mesilas	(1071)	Betahistine mesilate	Bétahistine (mésilate de)	Betaistina mesilato
Betamethasoni acetas	(0975)	Betamethasone acetate	Bétaméthasone (acétate de)	Betametasonone acetato
Betamethasoni dipropionas	(0809)	Betamethasone dipropionate	Bétaméthasone (dipropionate de)	Betametasonone dipropionato
Betamethasoni natrii phosphas	(0810)	Betamethasone sodium phosphate	Bétaméthasone (phosphate sodique de)	Betametasonone sodico fosfato
Betamethasoni valeras	(0811)	Betamethasone valerate	Bétaméthasone (valérate de)	Betametasonone valerato
Betamethasonum	(0312)	Betamethasone	Bétaméthasone	Betametasonone
Betaxololi hydrochloridum	(1072)	Betaxolol hydrochloride	Bétaxolol (chlorhydrate de)	Betaxololo cloridrato
Betulae folium	(1174)	Birch leaf	Bouleau (feuille de)	Betulla foglia
Bezafibratum	(1394)	Bezafibrate	Bézafibrate	Bezafibrato
Bifonazolum	(1395)	Bifonazole	Bifonazole	Bifonazolo
Biotinum	(1073)	Biotin	Biotine	Biotina
Biperideni hydrochloridum	(1074)	Biperiden hydrochloride	Bipéridène (chlorhydrate de)	Biperidene cloridrato
Bisacodylum	(0595)	Bisacodyl	Bisacodyl	Bisacodile
Bismuthi subcarbonas	(0012)	Bismuth subcarbonate	Bismuth (sous-carbonate de)	Bismuto sottocarbonato
Bismuthi subgallas	(1493)	Bismuth subgallate	Bismuth (sous-gallate de)	Bismuto sottogallato
Bismuthi subnitras ponderosum	(1494)	Bismuth subnitrate, heavy	Bismuth (sous-nitrate de) lourd	Bismuto sottonitrato pesante
Bismuthi subsalicylas	(1495)	Bismuth subsalicylate	Bismuth (sous-salicylate de)	Bismuto salicilato basico
Bistortae rhizoma	(2384)	Bistort rhizome	Bistorte (rhizome de)	Bistorta rizoma
Bleomycini sulfas	(0976)	Bleomycin sulphate	Bléomycine (sulfate de)	Bleomicina solfato
Boldi folium	(1396)	Boldo leaf	Boldo (feuille de)	Boldo foglia
Boragonis officinalis oleum raffinatum	(2105)	Borage (starflower) oil, refined	Bourrache (huile de) raffinée	Borragine olio raffinato
Borax	(0013)	Borax	Borax	Borace
Bromazepamum	(0879)	Bromazepam	Bromazepam	Bromazepam
Bromhexini hydrochloridum	(0706)	Bromhexine hydrochloride	Bromhexine (chlorhydrate de)	Bromexina cloridrato
Bromocriptini mesilas	(0596)	Bromocriptine mesilate	Bromocriptine (mésilate de)	Bromocriptina mesilato
Bromperidoli decanoas	(1397)	Bromperidol decanoate	Brompéridol (décanoate de)	Bromperidolo decanoato
Bromperidolum	(1178)	Bromperidol	Brompéridol	Bromperidolo
Brompheniraminini maleas	(0977)	Brompheniramine maleate	Bromphéniramine (maléate de)	Bromfeniramina maleato
Brotizolamum	(2197)	Brotizolam	Brotizolam	Brotizolam
Budesonidum	(1075)	Budesonide	Budésouide	Budesonide
Bufexamacum	(1179)	Bufexamac	Bufexamac	Bufexamac
Buflomedili hydrochloridum	(1398)	Buflomedil hydrochloride	Buflomédil (chlorhydrate de)	Buflomedil cloridrato
Bumetanidum	(1076)	Bumetanide	Bumétanide	Bumetanide
Bupivacaini hydrochloridum	(0541)	Bupivacaine hydrochloride	Bupivacaïne (chlorhydrate de)	Bupivacaina cloridrato
Buprenorphini hydrochloridum	(1181)	Buprenorphine hydrochloride	Buprénorphine (chlorhydrate de)	Buprenorfina cloridrato
Buprenorphinum	(1180)	Buprenorphine	Buprénorphine	Buprenorfina
Buserelinum	(1077)	Buserelin	Buséreline	Buserelina
Buspironi hydrochloridum	(1711)	Buspiron hydrochloride	Buspirone (chlorhydrate de)	Buspirone cloridrato
Busulfanum	(0542)	Busulfan	Busulfan	Busulfano
Butylhydroxyanisolum	(0880)	Butylhydroxyanisole	Butylhydroxyanisole	Butilidrossianisolo
Butylhydroxytoluenum	(0581)	Butylhydroxytoluene	Butylhydroxytoluène	Butilidrossitoluene
Butylis parahydroxybenzoas	(0881)	Butyl parahydroxybenzoate	Butyle (parahydroxybenzoate de)	Butile paraidrossibenzoato

<i>tert</i> -Butylamini perindoprilum	(2019)	Perindopril <i>tert</i> -butylamine	Périndopril <i>tert</i> -butylamine	Perindopril <i>tert</i> –butilamina
tri- <i>n</i> -Butylis phosphas	(1682)	tri- <i>n</i> -Butyl phosphate	tri- <i>n</i> -Butyle (phosphate de)	tri- <i>n</i> -Butile fosfato
Cabegolinum	(1773)	Cabergoline	Carbegoline	Cabergolina
Calcifediolum	(1295)	Calcifediol	Calcifédiol	Calcifediolo
Calcii acetas	(2128)	Calcium acetate	Calcium (acétate de)	Calcio acetato
Calcii ascorbas	(1182)	Calcium ascorbate	Calcium (ascorbate de)	Calcio ascorbato
Calcii carbonas	(0014)	Calcium carbonate	Calcium (carbonate de)	Calcio carbonato
Calcii chloridum dihydricum	(0015)	Calcium chloride dihydrate	Calcium (chlorure de) dihydraté	Calcio cloruro diidrato
Calcii chloridum hexahydricum	(0707)	Calcium chloride hexahydrate	Calcium (chlorure de) hexahydraté	Calcio cloruro esaidrato
Calcii dobesilas monohydricum	(1183)	Calcium dobesilate monohydrate	Calcium (dobésilate de) monohydraté	Calcio dobesilato monoidrato
Calcii folinas	(0978)	Calcium folinate	Calcium (folinate de)	Calcio folinato
Calcii glucoheptonas	(1399)	Calcium glucoheptonate	Calcium (glucoheptonate de)	Calcio glucoeptonato
Calcii gluconas	(0172)	Calcium gluconate	Calcium (gluconate de)	Calcio gluconato
Calcii gluconas ad iniectionabile	(0979)	Calcium gluconate for injection	Calcium (gluconate de) pour solution injectable	Calcio gluconato per preparazione iniettabile
Calcii glycerophosphas	(0980)	Calcium glycerophosphate	Calcium (glycérophosphate de)	Calcio glicerofosfato
Calcii hydrogenophosphas anhydricus	(0981)	Calcium hydrogen phosphate, anhydrous	Calcium (hydrogéo-phosphate de) anhydre	Calcio fosfato dibasico anidro
Calcii hydrogenophosphas dihydricus	(0116)	Calcium hydrogen phosphate dihydrate	Calcium (hydrogénophosphate de) dihydraté	Calcio fosfato dibasico diidrato
Calcii hydroxidum	(1078)	Calcium hydroxide	Calcium (hydroxide de)	Calcio idrossido
Calcii lactas anhydricus	(2118)	Calcium lactate anhydrous	Calcium (lactate de) anhydre	Calcio lattato anidro
Calcii lactas monohydricus	(2117)	Calcium lactate monohydrate	Calcium (lactate de) monohydraté	Calcio lattato monoidrato
Calcii lactas pentahydricus	(0468)	Calcium lactate pentahydrate	Calcium (lactate de) pentahydraté	Calcio lattato pentaidrato
Calcii lactas trihydricus	(0469)	Calcium lactate trihydrate	Calcium (lactate de) trihydraté	Calcio lattato triidrato
Calcii laevulinas dihydricus	(1296)	Calcium levulinate dihydrate	Calcium (lévulinate de) dihydraté	Calcio levulinato diidrato
Calcii levofolinas pentahydricus	(1606)	Calcium levofolinate pentahydrate	Lévofolinate calcique pentahydraté	Calcio levofolinato pentaidrato
Calcii pantothenas	(0470)	Calcium pantothenate	Calcium (pantothénate de)	Calcio pantotenato
Calcii stearas	(0882)	Calcium stearate	Calcium (stéarate de)	Calcio stearato
Calcii sulfas dihydricus	(0982)	Calcium sulphate dihydrate	Calcium (sulfate de) dihydraté	Calcio solfato diidrato
Calcipotriolum anhydricum	(2011)	Calcipotriol , anhydrous	Calcipotriol anhydre	Calcipotriolo anidro
Calcipotriolum monohydricum	(2284)	Calcipotriol monohydrate	Calcipotriol monohydraté	Calcipotriolo monoidrato
Calcitoninum salmonis	(0471)	Calcitonin (salmon)	Calcitonine de saumon	Calcitonina di salmone
Calcitriolum	(0883)	Calcitriol	Calcitriol	Calcitriolo
Calendulae flos	(1297)	Calendula flower	Souci	Calendula fiore
D-Camphora	(1400)	D-Camphor	D-Camphre	D-Canfora
Camphora racemica	(0655)	Camphor, racemic	Camphre racémique	Canfora racemica
Capsici fructus	(1859)	Capsicum	Piment de Cayenne	Capsico (Pepe di Cayenna, Peperoncino) (<i>sostituisce la monografia nazionale Capsico della FU XI ed.</i>)
Capsici oleoresina raffinata et quantificata	(2336)	Capsicum oleoresin, refined and quantified	Piment de Cayenne (oléorésine raffinée et quantifiée de)	Capsico oleoresina raffinata e titolata
Capsici tinctura normata	(2337)	Capsicum tincture, standardised	Piment de Cayenne (teinture titrée de)	Capsico tintura titolata
Captoprilum	(1079)	Captopril	Captopril	Captopril

Carbacholum	(1971)	Carbachol	Carbachol	Carbacolo
Carbamazepinum	(0543)	Carbamazepine	Carbamazépine	Carbamazepina
Carbasalatum calcicum	(1185)	Carbasalate calcium	Carbasalate calcique	Carbasalato calcico
Carbidopum	(0755)	Carbidopa	Carbidopa	Carbidopa
Carbimazolum	(0884)	Carbimazole	Carbimazol	Carbimazolo
Carbo activatus	(0313)	Charcoal, activated	Charbon activé	Carbone attivato
Carbocisteinum	(0885)	Carbocisteine	Carbocistéine	Carbocisteina
Carbomera	(1299)	Carbomers	Carbomères	Carbomeri
Carbonei dioxidum	(0375)	Carbon dioxide	Carbone (dioxyde de)	Carbonio diossido
Carboplatinum	(1081)	Carboplatin	Carboplatine	Carboplatino
Carboprostum trometamololum	(1712)	Carboprost trometamol	Carboprost trométamol	Carboprost trometamolo
Carboxymethylamylum natricum A	(0983)	Sodium starch glycolate (type A)	Carboxyméthylamidon sodique (type A)	Carbossimetilamido sodico (tipo A)
Carboxymethylamylum natricum B	(0984)	Sodium starch glycolate (type B)	Carboxyméthylamidon sodique (type B)	Carbossimetilamido sodico (tipo B)
Carboxymethylamylum natricum C	(1566)	Sodium starch glycolate (type C)	Carboxyméthylamidon sodique (type C)	Carbossimetilamido sodico (tipo C)
Carisoprodolum	(1689)	Carisoprodol	Carisoprodol	Carisoprodol
Carmellosum calcicum	(0886)	Carmellose calcium	Carmellose calcique	Carmellosa calcica
Carmellosum natricum	(0472)	Carmellose sodium	Carmellose sodique	Carmellosa sodica
Carmellosum natricum conexum	(0985)	Croscarmellose sodium	Croscarmellose sodique	Croscarmellosa sodica
Carmellosum natricum, substitutum humile	(1186)	Carmellose sodium, low-substituted	Carmellose sodique faiblement substituée	Carmellosa sodica a bassa sostituzione
Carmustinum	(1187)	Carmustine	Carmustine	Carmustina
Carteololi hydrochloridum	(1972)	Carteolol hydrochloride	Cartéolol (chlorhydrate de)	Carteololo cloridrato
Carthami flos	(2386)	Safflower flower	Carthame (fleur de)	Cartamo fiore
Carthami oleum raffinatum	(2088)	Safflower oil, refined	Carthame (huile de) raffinée	Cartamo olio raffinato
Carvedilolum	(1745)	Carvedilol	Carvédilol	Carvedilolo
Carvi aetheroleum	(1817)	Caraway oil	Carvi (huile essentielle de)	Cumino essenza
Carvi fructus	(1080)	Caraway fruit	Carvi	Carvi
Caryophylli floris aetheroleum	(1091)	Clove oil	Clou de girofle (huile essentielle de)	Garofano essenza
Caryophylli flos	(0376)	Clove	Clou de girofle	Chiodi di garofano
Cefaclorum	(0986)	Cefaclor	Céfaclor	Cefaclor
Cefadroxilum monohydricum	(0813)	Cefadroxil monohydrate	Céfadroxil monohydraté	Cefadroxile monoidrato
Cefalexinum monohydricum	(0708)	Cefalexin monohydrate	Céfalexine monohydraté	Cefalexina monoidrato
Cefalotinum natricum	(0987)	Cefalotin sodium	Céfalotine sodique	Cefalotina sodica
Cefamandoli nafas	(1402)	Cefamandole nafate	Céfamandole (nafate de)	Cefamandolo nafato
Cefapirinum natricum	(1650)	Cefapirin sodicum	Céfapirine sodique	Cefapirina sodica
Cefatrizinum propylen glycololum	(1403)	Cefatrizine propylene glycol	Céfatrizine propylèneglycol	Cefatrizina glicole propilenico
Cefazolinum natricum	(0988)	Cefazolin sodium	Céfazoline sodique	Cefazolina sodica
Cefepimi dihydrochloridum monohydricum	(2126)	Cefepime dihydrochloride monohydrate	Céfépime (dichlorhydrate de) monohydraté	Cefepima dicloridrato monoidrato
Cefiximum	(1188)	Cefixime	Céfixime	Cefixima
Cefoperazonum natricum	(1404)	Cefoperazone sodium	Céfopérazone sodique	Cefoperazone sodico
Cefoxitinum natricum	(0990)	Cefoxitin sodium	Céfoxitine sodique	Cefoxitina sodica
Cefradinum	(0814)	Cefradine	Céfradine	Cefradina
Ceftazidinum	(1405)	Ceftazidime	Ceftazidime	Ceftazidima
Ceftriaxonum natricum	(0991)	Ceftriaxone sodium	Ceftriaxone sodique	Ceftriaxone sodico
Cefuroximum axetili	(1300)	Cefuroxime axetil	Céfuroxime axétil	Cefuroxima axetile
Cefuroximum natricum	(0992)	Cefuroxime sodium	Céfuroxime sodique	Cefuroxima sodica
Celiprololi hydrochloridum	(1632)	Celiprolol hydrochloride	Céliprolol (chlorhydrate de)	Celiprololo cloridrato
Cellulae stirpes haematopoieticae humanae	(2323)	Human haematopoietic stem cells	Cellules souches hématopoïétiques humaines	Cellule staminali ematopoietiche umane
Cellulosi acetatas	(0887)	Cellulose acetate	Cellulose (acétate de)	Cellulosa acetato

Cellulosi acetas butyras	(1406)	Cellulose acetate butyrate	Cellulose (acétate butyrate de)	Cellulosa acetato butirrato
Cellulosi acetas phthalas	(0314)	Cellulose acetate phthalate	Cellulose (acétate phtalate de)	Cellulosa acetato ftalato
Cellulosi pulvis	(0315)	Cellulose, powdered	Cellulose en poudre	Cellulosa polvere
Cellulosum microcrystallinum	(0316)	Cellulose, microcrystalline	Cellulose microcristalline	Cellulosa microcristallina
Cellulosum microcrystallinum et carmellosum natricum	(2050)	Microcrystalline cellulose and carmellose sodium	Cellulose microcristalline et carmellose sodique	Cellulosa microcristallina e carmellosa sodica
Centaurii herba	(1301)	Centauray	Centaurée (petite)	Centaura minore
Centellae asiaticae herba	(1498)	Centella	Hydrocotyle	Centella
Cera alba	(0069)	Beeswax, white	Cire d'abeille blanche	Cera bianca
Cera carnauba	(0597)	Carnauba wax	Carnauba (cire de)	Cera carnauba
Cera flava	(0070)	Beeswax, yellow	Cire d'abeille jaune	Cera gialla
Cetirizini dihydrochloridum	(1084)	Cetirizine dihydrochloride	Cétirizine (dichlorhydrate de)	Cetirizina dicloridrato
Cetobemidoni hydrochloridum	(1746)	Ketobemidone hydrochloride	Cétobémidone (chlorhydrate de)	Chetobemidone cloridrato
Cetostearylis isononanoas	(1085)	Cetostearyl isononanoate	Cétostéaryle (isononanoate de)	Cetostearile isononanoato
Cetrimidum	(0378)	Cetrimide	Cétrimide	Cetrimide
Cetyl palmitas	(1906)	Cetyl palmitate	Cétyle (palmitate de)	Cetile palmitato
Cetylpyridinii chloridum	(0379)	Cetylpyridinium chloride	Cétylpyridinium (chlorure de)	Cetilpiridinio cloruro
Chamomillae romanae flos	(0380)	Chamomile flower, roman	Camomille romaine (fleur de)	Camomilla romana fiore
Chelidonii herba	(1861)	Greater celandine	Chélidoine	Celidonia
Chinidini sulfas	(0017)	Quinidine sulphate	Quinidine (sulfate de)	Chinidina solfato
Chinini hydrochloridum	(0018)	Quinine hydrochloride	Quinine (chlorhydrate de)	Chinina cloridrato
Chinini sulfas	(0019)	Quinine sulphate	Quinine (sulfate de)	Chinina solfato
Chitosani hydrochloridum	(1774)	Chitosan hydrochloride	Chitosane (chlorhydrate de)	Chitosano cloridrato
Chlorali hydras	(0265)	Chloral hydrate	Chloral (hydrate de)	Cloralio idrato
Chlorambucilum	(0137)	Chlorambucil	Chlorambucil	Clorambucile
Chloramphenicoli natrii succinas	(0709)	Chloramphenicol sodium succinate	Chloramphénicol (succinate sodique de)	Cloramfenicolo sodio succinato
Chloramphenicoli palmitas	(0473)	Chloramphenicol palmitate	Chloramphénicol (palmitate de)	Cloramfenicolo palmitato
Chloramphenicolum	(0071)	Chloramphenicol	Chloramphénicol	Cloramfenicolo
Chlorcyclizini hydrochloridum	(1086)	Chlorcyclizine hydrochloride	Chlorcyclizine (chlorhydrate de)	Clorciclizina cloridrato
Chlordiazepoxidi hydrochloridum	(0474)	Chlordiazepoxide hydrochloride	Chlordiazépoxyde (chlorhydrate de)	Clordiazepossido cloridrato
Chlordiazepoxidum	(0656)	Chlordiazepoxide	Chlordiazépoxyde	Clordiazepossido
Chlorhexidini diacetatas	(0657)	Chlorhexidine diacetate	Chlorhexidine (diacétate de)	Clorexidina diacetato
Chlorhexidini digluconatis solutio	(0658)	Chlorhexidine digluconate solution	Chlorhexidine (digluconate de), solution de	Clorexidina digluconato soluzione
Chlorhexidini dihydrochloridum	(0659)	Chlorhexidine dihydrochloride	Chlorhexidine (dichlorhydrate de)	Clorexidina dicloridrato
Chlorobutanolum anhydricum	(0382)	Chlorobutanol, anhydrous	Chlorobutanol anhydre	Clorobutanolo anidro
Chlorobutanolum hemihydricum	(0383)	Chlorobutanol hemihydrate	Chlorobutanol hémihydraté	Clorobutanolo emiidrato
Chlorocresolum	(0384)	Chlorocresol	Chlorocrésol	Clorocresolo
Chloroquini phosphas	(0544)	Chloroquine phosphate	Chloroquine (phosphate de)	Clorochina fosfato
Chloroquini sulfas	(0545)	Chloroquine sulphate	Chloroquine (sulfate de)	Clorochina solfato
Chlorothiazidum	(0385)	Chlorothiazide	Chlorothiazide	Clorotiazide
Chlorphenamini maleas	(0386)	Chlorphenamine maleate	Chlorphénamine (maléate de)	Clorfenamina maleato
Chlorpromazini hydrochloridum	(0475)	Chlorpromazine hydrochloride	Chlorpromazine (chlorhydrate de)	Clorpromazina cloridrato

Chlorpropamidum	(1087)	Chlorpropamide	Chlorpropamide	Clorpropamide
Chlorprothixeni hydrochloridum	(0815)	Chlorprothixene hydrochloride	Chlorprothixène (chlorhydrate de)	Clorprotixene cloridrato
Chlortalidonum	(0546)	Chlortalidone	Chlortalidone	Clortalidone
Chlortetracyclini hydrochloridum	(0173)	Chlortetracycline hydrochloride	Chlortétracycline (chlorhydrate de)	Clortetraciclina cloridrato
Cholecalciferoli pulvis	(0574)	Cholecalciferol concentrate (powder form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme pulvérulente	Colecalciferolo concentrato polvere
Cholecalciferolum	(0072)	Cholecalciferol	Cholécalciférol	Colecalciferolo
Cholecalciferolum densatum oleosum	(0575)	Cholecalciferol concentrate (oily form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme huileuse	Colecalciferolo concentrato oleoso
Cholecalciferolum in aqua dispergibile	(0598)	Cholecalciferol concentrate (water-dispersible form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme hydrodispersibile	Colecalciferolo concentrato idrodispersibile
Cholesterolum	(0993)	Cholesterol	Cholestérol	Colesterolo
Chondroitini natrii sulfas	(2064)	Chondroitin sulphate sodium	Chondroïtine (sulfate sodique de)	Condroitin solfato sodico
Chymotrypsinum	(0476)	Chymotrypsin	Chymotrypsine	Chimotripsina
Ciclopirox olaminum	(1302)	Ciclopirox olamine	Ciclopirox olamine	Ciclopirox olamina
Ciclopiroxum	(1407)	Ciclopirox	Ciclopirox	Ciclopirox
Ciclosporinum	(0994)	Ciclosporin	Ciclosporine	Ciclosporina
Cilastatinum natricum	(1408)	Cilastatin sodium	Cilastatine sodique	Cilastatina sodica
Cilazaprilum	(1499)	Cilazapril	Cilazapril	Cilazapril
Cimetidini hydrochloridum	(1500)	Cimetidine hydrochloride	Cimétidine (chlorhydrate de)	Cimetidina cloridrato
Cimetidinum	(0756)	Cimetidine	Cimétidine	Cimetidina
Cinchocaini hydrochloridum	(1088)	Cinchocaine hydrochloride	Cinchocaïne (chlorhydrate de)	Cincocaina cloridrato
Cinchonae cortex	(0174)	Cinchona bark	Quinquina	China corteccia
Cinchonae extractum fluidum normatum	(1818)	Chinchona liquid extract, standardised	Quinquina (extrait fluide titré de)	China estratto liquido titolato (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Cineolum	(1973)	Cineole	Cinéole	Cineolo
Cinnamomi cassiae aetheroleum	(1496)	Cassia oil	Cannelier (huile essentielle de)	Cannella di Cina essenza
Cinnamomi cortex	(0387)	Cinnamon	Cannelle dite de Ceylan	Cannella di Ceylon
Cinnamomi corticis tinctura	(1819)	Cinnamon tinctura	Cannelle dite de Ceylan (teinture de)	Cannella di Ceylon tintura
Cinnamomi zeylanici folii aetheroleum	(1608)	Cinnamon leaf oil, Ceylon	Cannelier dit de Ceylan (feuille de) (huile essentielle de)	Cannella di Ceylon foglia essenza
Cinnamomi zeylanicii corticis aetheroleum	(1501)	Cinnamon bark oil, Ceylon	Cannelle dite de Ceylan (huile essentielle de)	Cannella di Ceylon corteccia essenza
Cinnarizinum	(0816)	Cinnarizine	Cinnarizine	Cinnarizina
Ciprofibratum	(2013)	Ciprofibrate	Ciprofibrate	Ciprofibrato
Ciprofloxacini hydrochloridum	(0888)	Ciprofloxacin hydrochloride	Ciprofloxacine (chlorhydrate de)	Ciprofloxacina cloridrato
Ciprofloxacinum	(1089)	Ciprofloxacin	Ciprofloxacine	Ciprofloxacina
Cisapridi tartras	(1503)	Cisapride tartrate	Cisapride (tartrate de)	Cisapride tartrato
Cisapridum monohydricum	(0995)	Cisapride monohydrate	Cisapride monohydraté	Cisapride monoidrato
Cisplatinum	(0599)	Cisplatin	Cisplatine	Cisplatino
Citri reticulatae aetheroleum	(2355)	Mandarin oil	Mandarine (huile essentielle de)	Mandarino essenza (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Citronellae aetheroleum	(1609)	Citronella oil	Citronnelle (huile essentielle de)	Citronella essenza
Cladribinum	(2174)	Cladribine	Cladribine	Cladribina
Clarithromycinum	(1651)	Clarithromycin	Clarithromicine	Claritromicina
Clazurilum ad usum veterinarium	(1714)	Clazuril for veterinary use	Clazuril pour usage vétérinaire	Clazuril per uso veterinario
Clebopridi malas	(1303)	Clebopride malate	Clébopride (malate de)	Clebopride malato

Clemastini fumaras	(1190)	Clemastine fumarate	Clémastine (fumarate de)	Clemastina fumarato
Clenbuteroli hydrochloridum	(1409)	Clenbuterol hydrochloride	Clenbutérol (chlorhydrate de)	Clenbuterolo cloridrato
Clindamycini hydrochloridum	(0582)	Clindamycin hydrochloride	Clindamycine (chlorhydrate de)	Clindamicina cloridrato
Clindamycini phosphas	(0996)	Clindamycin phosphate	Clindamycine (phosphate de)	Clindamicina fosfato
Clioquinolum	(2111)	Clioquinol	Clioquinol	Cliochinolo
Clobazamum	(1974)	Clobazam	Clobazam	Clobazam
Clobetasoli propionas	(2127)	Clobetasol propionate	Clobétasol (propionate de)	Clobetasol propionato
Clobetasoni butyras	(1090)	Clobetasone butyrate	Clobétasone (butyrate de)	Clobetasone butirrato
Clofaziminum	(2054)	Clofazimine	Clofazimine	Clofazimina
Clofibratum	(0318)	Clofibrate	Clofibrate	Clofibrato
Clomifeni citras	(0997)	Clomifene citrate	Clomifène (citrate de)	Clomifene citrato
Clomipramini hydrochloridum	(0889)	Clomipramine hydrochloride	Clomipramine (chlorhydrate de)	Clomipramina cloridrato
Clonazepamum	(0890)	Clonazepam	Clonazépam	Clonazepam
Clonidini hydrochloridum	(0477)	Clonidine hydrochloride	Clonidine (chlorhydrate de)	Clonidina cloridrato
Closantelum natricum dihydricum ad usum veterinarium	(1716)	Closantel sodium dihydrate for veterinary use	Closantel sodique dihydrate pour usage vétérinaire	Closantel sodico diidrato per uso veterinario
Clotrimazolum	(0757)	Clotrimazole	Clotrimazole	Clotrimazolo
Cloxacillinum natricum	(0661)	Cloxacillin sodium	Cloxacilline sodique	Cloxacillina sodica
Clozapinum	(1191)	Clozapine	Clozapine	Clozapina
Cocaini hydrochloridum	(0073)	Cocaine hydrochloride	Cocaïne (chlorhydrate de)	Cocaina cloridrato
Cocoi oleum raffinatum	(1410)	Coconut oil, refined	Coco (huile de) raffinée	Olio di cocco raffinato
Cocoylis caprylocapras	(1411)	Cocoyl caprylocaprate	Cocoyle (caprylocaprate de)	Cocoile caprilocaprato
Codeini hydrochloridum dihydricum	(1412)	Codeine hydrochloride dihydrate	Codéine (chlorhydrate de) dihydraté	Codeina cloridrato diidrato
Codeini phosphas hemihydricus	(0074)	Codeine phosphate hemihydrate	Codéine (phosphate de) hémihydraté	Codeina fosfato emiidrato
Codeini phosphas sesquihydricus	(0075)	Codeine phosphate sesquihydrate	Codéine (phosphate de) sesquihydraté	Codeina fosfato sesquidrato
Codeinum	(0076)	Codeine	Codéine	Codeina
Codergocrini mesilas	(2060)	Codergocrine mesilate	Codergocrine (mésilate de)	Codergocrina mesilato
Coffeinum	(0267)	Caffeine	Caféine	Caffeina
Coffeinum monohydricum	(0268)	Caffeine monohydrate	Caféine monohydratée	Caffeina monoidrata
Colae semen	(1504)	Cola	Kola	Cola (Noci di cola)
Colchicinum	(0758)	Colchicine	Colchicine	Colchicina
Colestyraminum	(1775)	Colestyramine	Colestyramine	Colestiramina
Colistimethatum natricum	(0319)	Colistimethate sodium	Colistiméthate sodique	Colistimetato sodico
Colistini sulfas	(0320)	Colistin sulphate	Colistine (sulfate de)	Colistina solfato
Colophonium	(1862)	Colophony	Colophane	Colofonia
Copolymerum methacrylatis butylati basicum	(1975)	Basic butylated methacrylate copolymer	Copolymère basique de méthacrylate de butyle	Butile metacrilato copolimero basico
Copovidonum	(0891)	Copovidone	Copovidone	Copovidone
Coriandri aetheroleum	(1820)	Coriander oil	Coriandre (huile essentielle de)	Coriandolo essenza
Coriandri fructus	(1304)	Coriander	Coriandre	Coriandolo
Cortisoni acetatas	(0321)	Cortisone acetate	Cortisone (acétate de)	Cortisone acetato
Crataegi folii cum flore extractum fluidum quantifictum	(1864)	Hawthorn leaf and flower liquid extract, quantified	Aubépine (feuille et fleur), extrait fluide quantifié de	Biancospino foglia e fiore estratto liquido quantificato
Crataegi folii cum flore extractum siccum	(1865)	Hawthorn leaf and flower dry extract	Aubépine (feuille et fleur d') extrait sec de	Biancospino foglia e fiore estratto secco
Crataegi folium cum flore	(1432)	Hawthorn leaf and flower	Aubépine (feuille et fleur d')	Biancospino foglia e fiore
Crataegi fructus	(1220)	Hawthorn berries	Aubépine (baie d')	Biancospino frutto
Cresolum crudum	(1628)	Cresol, crude	Crésol brut	Cresolo grezzo (sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)
Crospovidonum	(0892)	Crospovidone	Crospovidone	Crospovidone

Crotamitonum	(1194)	Crotamiton	Crotamiton	Crotamitone
Cupri sulfas anhydricus	(0893)	Copper sulphate, anhydrous	Cuivre (sulfate de) anhydre	Rame solfato anidro
Cupri sulfas pentahydricus	(0894)	Copper sulphate pentahydrate	Cuivre (sulfate de) pentahydraté	Rame solfato pentaidrato
Curcumae xanthorrhizae rhizoma	(1441)	Turmeric, javanese	Temoe lawacq	Curcuma di Giava
Cyamopsidis seminis pulvis	(1218)	Guar	Guar	Guar
Cyanocobalaminum	(0547)	Cyanocobalamin	Cyanocobalamine	Cianocobalamina
Cyclizini hydrochloridum	(1092)	Cyclizine hydrochloride	Cyclizine (chlorhydrate de)	Ciclizina cloridrato
Cyclopentolati hydrochloridum	(1093)	Cyclopentolate hydrochloride	Cyclopentolate (chlorhydrate de)	Ciclopentolato cloridrato
Cyclophosphamidum	(0711)	Cyclophosphamide	Cyclophosphamide	Ciclofosfamide
Cynara folium	(1866)	Artichoke leaf	Artichaut (feuille de)	Carciofo foglia
Cyproheptadini hydrochloridum	(0817)	Cyproheptadine hydrochloride	Cyproheptadine (chlorhydrate de)	Ciproeptadina cloridrato
Cyproteroni acetat	(1094)	Cyproterone acetate	Cyprotérone (acétate de)	Ciproterone acetato
Cysteini hydrochloridum monohydricum	(0895)	Cysteine hydrochloride monohydrate	Cystéine (chlorhydrate de) monohydraté	Cisteina cloridrato monoidrato
Cystinum	(0998)	Cystine	Cystine	Cistina
Cytarabinum	(0760)	Cytarabine	Cytarabine	Citarabina
Dacarbazineum	(1691)	Dacarbazine	Dacarbazine	Dacarbazina
Dalteparinum natricum	(1195)	Dalteparin sodium	Daltéparine sodique	Dalteparina sodica
Danaparoidum natricum	(2090)	Danaparoid sodium	Danaparoiide sodique	Danaparoid sodico
Dapsonum	(0077)	Dapsone	Dapsone	Dapsone
Daunorubicini hydrochloridum	(0662)	Daunorubicin hydrochloride	Daunorubicine (chlorhydrate de)	Daunorubicina cloridrato
Decylis oleas	(1307)	Decyl oleate	Décyle (oléate de)	Decile oleato
Deferoxamini mesilas	(0896)	Deferoxamine mesilate	Déféroxamine (mésilate de)	Deferoxamina mesilato
Dembrexini hydrochloridum monohydricum ad usum veterinarium	(2169)	Dembrexine hydrochloride monohydrate for veterinary use	Dembrexine (chlorhydrate de) monohydraté pour usage vétérinaire	Dembrexina cloridrato monoidrato per uso veterinario
Demeclocyclini hydrochloridum	(0176)	Demeclocycline hydrochloride	Déméclocycline (chlorhydrate de)	Demeclociclina cloridrato
Deptropini citras	(1308)	Deptropine citrate	Deptropine (citrate de)	Deptropina citrato
Dequalinii chloridum	(1413)	Dequalinium chloride	Déqualinium (chlorure de)	Dequalinio cloruro
Desipramini hydrochloridum	(0481)	Desipramine hydrochloride	Désipramine (chlorhydrate de)	Desipramina cloridrato
Deslanosidum	(0482)	Deslanoside	Deslanoside	Deslanoside
Desmopressinum	(0712)	Desmopressin	Desmopressine	Desmopressina
Desogestrelum	(1717)	Desogestrel	Désogestrel	Desogestrel
Desoxycortoni acetat	(0322)	Desoxycortone acetate	Désoxycortone (acétate de)	Desossicortone acetato
Detomidini hydrochloridum ad usum veterinarium	(1414)	Detomidine hydrochloride for veterinary use	Détomidine (chlorhydrate de) pour usage vétérinaire	Detomidina cloridrato per uso veterinario
Dexamethasoni acetat	(0548)	Dexamethasone acetate	Dexaméthasone (acétate de)	Desametasone acetato
Dexamethasoni isonicotinas	(2237)	Dexamethasone isonicotinate	Dexaméthasone (isonicotinate de)	Desametasone isonicotinato
Dexamethasoni natrii phosphas	(0549)	Dexamethasone sodium phosphate	Dexaméthasone (phosphate sodique de)	Desametasone sodio fosfato
Dexamethasonum	(0388)	Dexamethasone	Dexaméthasone	Desametasone
Dexchlorphenirami maleas	(1196)	Dexchlorpheniramine maleate	Dexchlorphéniramine (maléate de)	Dexclorfeniramina maleato
Dexpanthenolum	(0761)	Dexpanthenol	Dexpanthénol	Dexpantenolo
Dextranomerum	(2238)	Dextranomer	Dextranomère	Dextranmero
Dextranum 1 ad iniectabile	(1506)	Dextran 1 for injection	Dextran 1 pour préparations injectables	Destrano 1 per preparazione iniettabile
Dextranum 40 ad iniectabile	(0999)	Dextran 40 for injection	Dextran 40 pour préparations injectables	Destrano 40 per preparazione iniettabile
Dextranum 60 ad iniectabile	(1000)	Dextran 60 for injection	Dextran 60 pour préparations injectables	Destrano 60 per preparazione iniettabile

Dextranum 70 ad iniectionabile	(1001)	Dextran 70 for injection	Dextran 70 pour préparations injectables	Destrano 70 per preparazione iniettabile
Dextrinum	(1507)	Dextrin	Dextrine	Destrina
Dextromethorphan hydrobromidum	(0020)	Dextromethorphan hydrobromide	Dextrométhorphane (bromhydrate de)	Destrometorfano bromidrato
Dextromoramidi tartras	(0021)	Dextromoramide tartrate	Dextromoramide (tartrate de)	Destromoramide tartrato
Dextropropoxypheni hydrochloridum	(0713)	Dextropropoxyphene hydrochloride	Dextropropoxyphène (chlorhydrate de)	Destropropoxifene cloridrato
Diazepamum	(0022)	Diazepam	Diazépam	Diazepam
Diazoxidum	(0550)	Diazoxide	Diazoxide	Diazossido
Dibrompropamidini diisetonas	(2300)	Dibrompropamidine diisetonate	Dibrompropamidine (diisétonate de)	Dibrompropamidina diisetonato
Dibutylis phthalas	(0762)	Dibutyl phthalate	Dibutyle (phtalate de)	Dibutile ftalato
Diclazurilum ad usum veterinarium	(1718)	Diclazuril for veterinary use	Diclazuril pour usage vétérinaire	Diclazuril per uso veterinario
Diclofenacum kalicum	(1508)	Diclofenac potassium	Diclofénac potassique	Diclofenac potassico
Diclofenacum natricum	(1002)	Diclofenac sodium	Diclofénac sodique	Diclofenac sodico
Dicloxacillinum natricum	(0663)	Dicloxacillin sodium	Dicloxacilline sodique	Dicloxacillina sodica
Dicycloverini hydrochloridum	(1197)	Dicycloverine hydrochloride	Dicyclovérine (chlorhydrate de)	Dicicloverina cloridrato
Didanosinum	(2200)	Didanosine	Didanosine	Didanosina
Dienestrolum	(0483)	Dienestrol	Dienestrol	Dienestrol
Diethylcarbamazini citras	(0271)	Diethylcarbamazine citrate	Diéthylcarbamazine (citrate de)	Diethylcarbamazina citrato
Diethylenglycoli monoethylicum aetherum	(1198)	Diethylene glycol monoethyl ether	Diéthylèneglycol (éther monoéthylique de)	Glicole dietilenico monoetiletere
Diethylenglycoli palmitostearas	(1415)	Diethylene glycol palmitostearate	Diéthylèneglycol (palmitostéarate de)	Glicole dietilenico palmitostearato
Diethylis phthalas	(0897)	Diethyl phthalate	Diéthyle (phtalate de)	Dietile ftalato
Diethylstilbestrolum	(0484)	Diethylstilbestrol	Diéthylstilbestrol	Dietilstilbestrol
Diflunisalum	(0818)	Diflunisal	Diflunisal	Diflunisal
Digitalis purpureae folium	(0117)	Digitalis leaf	Digitale pourrée (feuille de)	Digitale foglia
Digitoxinum	(0078)	Digitoxin	Digitoxine	Digitossina
Digoxinum	(0079)	Digoxin	Digoxine	Digossina
Dihydralazini sulfas hydricus	(1310)	Dihydralazine sulphate, hydrated	Dihydralazine (sulfate de) hydraté	Diidralazina solfato idrato
Dihydrocodeini hydrogenotartras	(1776)	Dihydrocodeine hydrogen tartrate	Dihydrocodéine (hydrogéné tartrate de)	Diidrocodeina idrogeno tartrato
Dihydroergocristini mesilas	(1416)	Dihydroergocristine mesilate	Dihydroergocristine (mésilate de)	Diidroergocristina mesilato
Dihydroergotamini mesilas	(0551)	Dihydroergotamine mesilate	Dihydroergotamine (mésilate de)	Diidroergotamina mesilato
Dihydroergotamini tartras	(0600)	Dihydroergotamine tartrate	Dihydroergotamine (tartrate de)	Diidroergotamina tartrato
Dihydrostreptomycini sulfas ad usum veterinarium	(0485)	Dihydrostreptomycin sulphate for veterinary use	Dihydrostreptomycine (sulfate de) pour usage vétérinaire	Diidrostreptomicina solfato per uso veterinario
Dihydrotachysterolum	(2014)	Dihydrotachysterol	Dihydrotachystérol	Diidrotachisterolo
Dikalii clorazepas	(0898)	Dipotassium clorazepate	Clorazépate dipotassique	Clorazepato dipotassico
Dikalii phosphas	(1003)	Dipotassium phosphate	Phosphate dipotassique	Potassio fosfato dibasico
Diltiazemi hydrochloridum	(1004)	Diltiazem hydrochloride	Diltiazem (chlorhydrate de)	Diltiazem cloridrato
Dimenhydrinatum	(0601)	Dimenhydrinate	Dimenhydrinate	Dimenidrinato
Dimercaprolum	(0389)	Dimercaprol	Dimercaprol	Dimercaprolo
Dimethylacetamidum	(1667)	Dimethylacetamide	Diméthylacétamide	Dimetilacetamide
Dimethylis sulfoxidum	(0763)	Dimethyl sulfoxide	Diméthylsulfoxyde	Dimetilsolfossido
Dimeticonum	(0138)	Dimeticone	Diméticone	Dimeticone
Dimetindeni maleas	(1417)	Dimetindene maleate	Dimétindène (maléate de)	Dimetindene maleato
Dinatri etidronas	(1778)	Etidronate disodium	Etidronate disodique	Etidronato disodico
Dinatrii edetas	(0232)	Disodium edetate	Édéate disodique	Disodio edetato

Dinatrii pamidronas pentahydricus	(1779)	Pamidronate disodium pentahydrate	Pamidronate disodique pentahydraté	Pamidronato disodico pentaidrato
Dinatrii phosphas anhydricus	(1509)	Disodium phosphate, anhydrous	Phosphate disodique anhydre	Sodio fosfato dibasico anidro
Dinatrii phosphas dihydricus	(0602)	Disodium phosphate dihydrate	Phosphate disodique dihydraté	Sodio fosfato dibasico diidrato
Dinatrii phosphas dodecahydricus	(0118)	Disodium phosphate dodecahydrate	Phosphate disodique dodécahydraté	Sodio fosfato dibasico dodecaidrato
Dinitrogenii oxidum	(0416)	Nitrous oxide	Azote (protoxyde d')	Azoto protossido
Dinoprostinum	(1311)	Dinoprostone	Dinoprostone	Dinoprostone
Dinoprostum trometamolom	(1312)	Dinoprost trometamol	Dinoprost trométamol	Dinoprostone trometamolo
Diosminum	(1611)	Diosmin	Diosmine	Diosmina
Diphenhydramini hydrochloridum	(0023)	Diphenhydramine hydrochloride	Diphénhydramine (chlorhydrate de)	Difenidramina cloridrato
Diphenoxylati hydrochloridum	(0819)	Diphenoxylate hydrochloride	Diphénoxyate (chlorhydrate de)	Difenoxilato cloridrato
Dipivefrini hydrochloridum	(1719)	Dipivefrine hydrochloride	Dipivefrine (chlorhydrate de)	Dipivefrina cloridrato
Diprophyllinum	(0486)	Diprophylline	Diprophylline	Diprofillina
Dipyridamolum	(1199)	Dipyridamole	Dipyridamole	Dipiridamolo
Dirithromycinum	(1313)	Dirithromycin	Dirithromycine	Diritromicina
Disopyramidi phosphas	(1005)	Disopyramide phosphate	Disopyramide (phosphate de)	Disopiramide fosfato
Disopyramidum	(1006)	Disopyramide	Disopyramide	Disopiramide
Disulfiramum	(0603)	Disulfiram	Disulfirame	Disulfiram
Dithranolum	(1007)	Dithranol	Dithranol	Ditranolo
Dobutamini hydrochloridum	(1200)	Dobutamine hydrochloride	Dobutamine (chlorhydrate de)	Dobutamina cloridrato
Dodecylis gallas	(2078)	Dodecyl gallate	Dodécyle (gallate de)	Dodecile gallato
Domperidoni maleas	(1008)	Domperidone maleate	Dompéridone (maléate de)	Domperidone maleato
Domperidonum	(1009)	Domperidone	Dompéridone	Domperidone
Dopamini hydrochloridum	(0664)	Dopamine hydrochloride	Dopamine (chlorhydrate de)	Dopamina cloridrato
Dopexamine dihydrochloridum	(1748)	Dopexamine dihydrochloride	Dopexamine (dichlorhydrate de)	Dopexamina dicloridrato
Dorzolamidi hydrochloridum	(2359)	Dorzolamide hydrochloride	Dorzolamide (chlorhydrate de)	Dorzolamide cloridrato
Dosulepini hydrochloridum	(1314)	Dosulepin hydrochloride	Dosulépine (chlorhydrate de)	Dosulepina cloridrato
Doxaprami hydrochloridum	(1201)	Doxapram hydrochloride	Doxapram (chlorhydrate de)	Doxapram cloridrato
Doxazosini mesilas	(2125)	Doxazosin mesilate	Doxazosine (mésilate de)	Doxazosin mesilato
Doxepini hydrochloridum	(1096)	Doxepin hydrochloride	Doxépine (chlorhydrate de)	Doxepina cloridrato
Doxorubicini hydrochloridum	(0714)	Doxorubicin hydrochloride	Doxorubicine (chlorhydrate de)	Doxorubicina cloridrato
Doxycyclini hyclas	(0272)	Doxycycline hyclate	Doxycycline (hyclate de)	Doxiciclina iclato
Doxycyclinum monohydricum	(0820)	Doxycycline monohydrate	Doxycycline monohydraté	Doxiciclina monoidrato
Doxylamini hydrogenosuccinas	(1589)	Doxylamine hydrogen succinate	Doxylamine (hydrogénosuccinate de)	Doxilamina idrogeno succinato
Droperidolum	(1010)	Droperidol	Dropéridol	Droperidolo
Ebastinum	(2015)	Ebastine	Ébastine	Ebastina
Echinacea angustifolia radix	(1821)	Narrow-leaved coneflower root	Echinacea angustifolia (racine d')	Echinacea angustifolia radice
Echinacea pallida radix	(1822)	Pale coneflower root	Echinacea pallida (racine d')	Echinacea pallida radice
Echinaceae purpureae herba	(1823)	Purple coneflower herb	Echinacea purpurea (parties aériennes fleuries d')	Echinacea purpurea parti aeree fiorite
Echinaceae purpureae radix	(1824)	Purple coneflower root	Echinacea purpurea (racine d')	Echinacea purpurea radice
Econazoli nitras	(0665)	Econazole nitrate	Éconazole (nitrate d')	Econazolo nitrato
Econazolom	(2049)	Econazole	Econazole	Econazolo

Edrophonii chloridum	(2106)	Edrophonium chloride	Edrophonium (chlorure d')	Edrofonio cloruro
Eleutherococci radix	(1419)	Eleutherococcus	Éleuthérocoque	Eleuterococco
Emedastini difumaras	(2242)	Emedastine difumarate	Émédistine (difumarate de)	Emadastina difumarato
Emetini hydrochloridum heptahydricum	(0080)	Emetine hydrochloride heptahydrate	Émétine (chlorhydrate d') heptahydraté	Emetina cloridrato eptaidrato
Emetini hydrochloridum pentahydricum	(0081)	Emetine hydrochloride pentahydrate	Émétine (chlorhydrate d') pentahydraté	Emetina cloridrato pentaidrato
Enalaprii maleas	(1420)	Enalapril maleate	Énalapril (maléate d')	Enalapril maleato
Enaprilatum dihydricum	(1749)	Enalaprilat dihydrate	Enalaprilate dihydraté	Enaprilat diidrato
Enilconazolium ad usum veterinarium	(1720)	Enilconazole for veterinary use	Enilconazole pour usage vétérinaire	Enilconazolo per uso veterinario
Enoxaparinum natricum	(1097)	Enoxaparin sodium	Énoxaparine sodique	Enoxaparina sodica
Enoxolonum	(1511)	Enoxolone	Enoxolone	Enoxolone
Ephedrini hydrochloridum	(0487)	Ephedrine hydrochloride	Éphédrine (chlorhydrate d')	Efedrina cloridrato
Ephedrini racemici hydrochloridum	(0715)	Ephedrine hydrochloride, racemic	Éphédrine (chlorhydrate d') racémique	Efedrina cloridrato racemica
Ephedrinum anhydricum	(0488)	Ephedrine, anhydrous	Éphédrine anhydre	Efedrina anidra
Ephedrinum hemihydricum	(0489)	Ephedrine hemihydrate	Éphédrine hémihydratée	Efedrina emiidrata
Epirubicini hydrochloridum	(1590)	Epirubicin hydrochloride	Epirubicine (chlorhydrate d')	Epirubicina cloridrato
Equiseti herba	(1825)	Equisetum stem	Prêle (tige de)	Equiseto (Coda cavallina)
Ergocalciferolum	(0082)	Ergocalciferol	Ergocalciférol	Ergocalciferolo
Ergometrini maleas	(0223)	Ergometrine maleate	Ergométrine (maléate d')	Ergometrina maleato
Ergotamini tartras	(0224)	Ergotamine tartrate	Érgotamine (tartrate d')	Ergotamina tartrato
Erythritolum	(1803)	Erythritol	Érythritol	Eritritolo
Erythromycini estolas	(0552)	Erythromycin estolate	Érythromycine (estolate d')	Eritromicina estolato
Erythromycini ethylsuccinas	(0274)	Erythromycin ethylsuccinate	Érythromycine (éthylsuccinate d')	Eritromicina etilsuccinato
Erythromycini lactobionas	(1098)	Erythromycin lactobionate	Érythromycine (lactobionate d')	Eritromicina lattobionato
Erythromycini stearas	(0490)	Erythromycin stearate	Érythromycine (stéarate d')	Eritromicina stearato
Erythromycinum	(0179)	Erythromycin	Érythromycine	Eritromicina
Erythropoietini solutio concentrata	(1316)	Erythropoietin concentrated solution	Érythropoïétine (solution concentrée d')	Eritropoietina soluzione concentrata
Eserini salicylas	(0286)	Physostigmine salicylate	Ésérine (salicylate d')	Fisostigmina salicilato (Eserina salicilato)
Eserini sulfas	(0684)	Physostigmine sulphate	Ésérine (sulfate d')	Fisostigmina solfato (Eserina solfato)
Esketamini hydrochloridum	(1742)	Esketamine hydrochloride	Esketamine (chlorhydrate de)	Esketamina cloridrato
Estradioli benzoas	(0139)	Estradiol benzoate	Estradiol (benzoate d')	Estradiolo benzoato
Estradioli valeras	(1614)	Estradiol valerate	Estradiol (valérate d')	Estradiolo valerato
Estradiolum hemihydricum	(0821)	Estradiol hemihydrate	Estradiol hémihydraté	Estradiolo emidrato
Estriolum	(1203)	Estriol	Estriol	Estriolo
Estrogeni coniuncti	(1512)	Estrogens, conjugated	Estrogènes conjugués	Estrogeni coniugati
Etamsylatum	(1204)	Etamsylate	Étamsylate	Etamsilato
Ethacridini lactas monohydricus	(1591)	Ethacridine lactate monohydrate	Éthacridine (lactate d') monohydraté	Etacridina lattato monoidrato
Ethambutoli hydrochloridum	(0553)	Éthambutol hydrochloride	Éthambutol (chlorhydrate d')	Etambutolo cloridrato
Ethanolum (96 per centum)	(1317)	Ethanol (96 per cent)	Ethanol à 96 pour cent	Etanolo 96 per cento
Ethanolum anhydricum	(1318)	Ethanol, anhydrous	Ethanol anhydre	Etanolo anidro
Ethinylestradiolum	(0140)	Ethinylestradiol	Éthinylestradiol	Etinilestradiolo
Ethionamidum	(0141)	Ethionamide	Éthionamide	Etionamide
Ethosuximidum	(0764)	Ethosuximide	Éthosuximide	Etosuccimide
Ethylcellulosum	(0822)	Ethylcellulose	Éthylcellulose	Etilcellulosa
Ethylendiaminum	(0716)	Ethylenediamine	Éthylènediamine	Etilendiamina
Ethylenglycoli monopalmitostearas	(1421)	Ethylene glycol monopalmitostearate	Éthylèneglycol (monopalmitostéarate d')	Glicole etilenico monopalmitostearato
Ethylis acetas	(0899)	Ethyl acetate	Éthyle (acétate d')	Etile acetato
Ethylis oleas	(1319)	Ethyl oleate	Éthyle (oléate d')	Etile oleato

Ethylis parahydroxybenzoas	(0900)	Ethyl parahydroxybenzoate	Éthyle (parahydroxybenzoate d')	Etile paraidrossibenzoato
Ethylis parahydroxybenzoas natricus	(2134)	Ethyl parahydroxybenzoate sodium	Éthyle (parahydroxybenzoate d') sodique	Etile paraidrossibenzoato sodico
Ethylmorphini hydrochloridum	(0491)	Ethylmorphine hydrochloride	Éthylmorphine (chlorhydrate d')	Etilmorfini cloridrato
Etilefrini hydrochloridum	(1205)	Etilefrine hydrochloride	Étiléfrine (chlorhydrate d')	Etilefrina cloridrato
Etodolacum	(1422)	Etodolac	Étodolac	Etodolac
Etofenamatum	(1513)	Etofenamate	Étofénamate	Etofenamato
Etofillinum	(0492)	Etofilline	Étofilline	Etofillina
Etomidatum	(1514)	Etomidate	Étomidate	Etomidato
Etoposidum	(0823)	Etoposide	Étoposide	Etoposide
Eucalypti aetheroleum	(0390)	Eucalyptus oil	Eucalyptus (huile essentielle d')	Eucalipto essenza
Eucalypti folium	(1320)	Eucalyptus leaf	Eucalyptus (feuille d')	Eucalipto foglia
Eugenolum	(1100)	Eugenol	Eugénol	Eugenolo
Factor humanus von Willebrandi	(2298)	Human von Willebrand factor	Facteur Willebrand humain	Fattore von Willebrand umano
Factor IX coagulationis humanus	(1223)	Human coagulation factor IX	Facteur IX de coagulation humain	Fattore IX della coagulazione del sangue umano
Factor VII coagulationis humanus	(1224)	Human coagulation factor VII	Facteur VII de coagulation humain	Fattore VII della coagulazione del sangue umano
Factor VIII coagulationis humanus	(0275)	Human coagulation factor VIII	Facteur VIII de coagulation humain	Fattore VIII della coagulazione del sangue umano
Factor VIII coagulationis humanus (rADN)	(1643)	Human coagulation factor VIII (rDNA)	Facteur VIII de coagulation humain (ADNr)	Fattore VIII della coagulazione del sangue umano (DNAr)
Factor XI coagulationis humanus	(1644)	Human coagulation factor XI	Facteur XI de coagulation humain	Fattore XI della coagulazione del sangue umano
Fagopiri herba	(2184)	Buckwheat herb	Sarrasin	Grano saraceno
Famotidinum	(1012)	Famotidine	Famotidine	Famotidina
Febantelum ad usum veterinarium	(2176)	Febantel for veterinary use	Fébantel pour usage vétérinaire	Febantel per uso veterinario
Felbinacum	(2304)	Felbinac	Felbinac	Felbinac
Felodipinum	(1013)	Felodipine	Félodipine	Felodipina
Felypressinum	(1634)	Felypressin	Félypressine	Felipressina
Fenbendazolium ad usum veterinarium	(1208)	Fenbendazole for veterinary use	Fenbendazole pour usage vétérinaire	Fenbendazolo per uso veterinario
Fenbufenum	(1209)	Fenbufen	Fenbufène	Fenbufene
Fenofibratum	(1322)	Fenofibrate	Fénofibrate	Fenofibrato
Fenoteroli hydrobromidum	(0901)	Fenoterol hydrobromide	Fénotérol (bromhydrate de)	Fenoterolo bromidrato
Fentanyli citras	(1103)	Fentanyl citrate	Fentanyl (citrate de)	Fentanil citrato
Fentanylum	(1210)	Fentanyl	Fentanyl	Fentanil
Fenticonazoli nitras	(1211)	Fenticonazole nitrate	Fenticonazole (nitrate de)	Fenticonazolo nitrato
Ferri chloridum hexahydricum	(1515)	Ferric chloride hexahydrate	Ferrique (chlorure) hexahydraté	Ferrico cloruro esaidrato
Ferrosi fumaras	(0902)	Ferrous fumarate	Fumarate ferreux	Ferroso fumarato
Ferrosi gluconas	(0493)	Ferrous gluconate	Gluconate ferreux	Ferroso gluconato
Ferrosi sulfas desiccatus	(2340)	Ferrous sulphate, dried	Sulfate ferreux desséché	Ferroso solfato essiccato
Ferrosi sulfas heptahydricus	(0083)	Ferrous sulphate heptahydrate	Sulfate ferreux heptahydraté	Ferroso solfato eptaidrato
Fexofenadini hydrochloridum	(2280)	Fexofenadine hydrochloride	Fexofénadine (chlorhydrate de)	Fexofenadina cloridrato
Fibrini glutinum	(0903)	Fibrin sealant kit	Colle-fibrine (nécessaire de)	Colla di fibrina
Fibrinogenum humanum	(0024)	Human fibrinogen	Fibrinogène humain	Fibrinogeno umano
Filipendulae ulmariae herba	(1868)	Meadowsweet	Reine des prés (sommité fleurie de)	Olmaria
Finasteridum	(1615)	Finasteride	Finastéride	Finasteride
Flavoxati hydrochloridum	(1692)	Flavoxate hydrochloride	Flavoxate (chlorhydrate de)	Flavoxato cloridrato
Flecainidi acetat	(1324)	Flecainide acetate	Flécaïnide (acétate de)	Flecainide acetato

Flubendazolium	(1721)	Flubendazole	Flubendazole	Flubendazolo
Flucloxacillinum natricum	(0668)	Flucloxacillin sodium	Flucloxacilline sodique	Flucloxacillina sodica
Fluconazolium	(2287)	Fluconazole	Fluconazole	Fluconazolo
Flucytosinum	(0766)	Flucytosine	Flucytosine	Flucitosina
Fludarabini phosphas	(1781)	Fludarabine phosphate	Fludarabine (phosphate de)	Fludarabina fosfato
Fludrocortisoni acetatas	(0767)	Fludrocortisone acetate	Fludrocortisone (acétate de)	Fludrocortisone acetato
Flumazenilium	(1326)	Flumazenil	Flumazénil	Flumazenil
Flumequinum	(1517)	Flumequine	Fluméquine	Flumechina
Flumetasoni pivalas	(1327)	Flumetasone pivalate	Flumétasone (pivalate de)	Flumetasone pivalato
Flunarizini dihydrochloridum	(1722)	Flunarizine dihydrochloride	Flunarizine (dichlorhydrate de)	Flunarizina dicloridrato
Flunitrazepamum	(0717)	Flunitrazepam	Flunitrazépam	Flunitrazepam
Flunixini megluminum ad usum veterinarium	(1696)	Flunixin meglumine for veterinary use	Flunixine méglumine pour usage vétérinaire	Flunixina meglumina per uso veterinario
Fluocinoloni acetonidum	(0494)	Fluocinolone acetonide	Fluocinolone (acétonide de)	Fluocinolone acetonide
Fluocortoloni pivalas	(1212)	Fluocortolone pivalate	Fluocortolone (pivalate de)	Fluocortolone pivalato
Fluoresceinum	(2348)	Fluorescein	Fluorescéine	Fluoresceina
Fluoresceinum natricum	(1213)	Fluorescein sodium	Fluorescéine sodique	Fluoresceina sodica
Fluorouracilum	(0611)	Fluorouracil	Fluorouracile	Fluorouracile
Fluoxetini hydrochloridum	(1104)	Fluoxetine hydrochloride	Fluoxétine (chlorhydrate de)	Fluoxetina cloridrato
Flupentixoli dihydrochloridum	(1693)	Flupentixol dihydrochloride	Flupentixol (dichlorhydrate de)	Flupentixolo dicloridrato
Fluphenazini decanoas	(1014)	Fluphenazine decanoate	Fluphénazine (décanoate de)	Flufenazina decanoato
Fluphenazini dihydrochloridum	(0904)	Fluphenazine dihydrochloride	Fluphénazine (dichlorhydrate de)	Flufenazina dicloridrato
Fluphenazini enantas	(1015)	Fluphenazine enantate	Fluphénazine (énantate de)	Flufenazina enantato
Flurazepamum monohydrochloridum	(0905)	Flurazepam monohydrochloride	Flurazépam (monochlorhydrate de)	Flurazepam monocloridrato
Flurbiprofenum	(1519)	Flurbiprofen	Flurbiprôfène	Flurbiprofene
Fluspirilenum	(1723)	Fluspirilene	Fluspirilène	Fluspirilene
Flutamidum	(1423)	Flutamide	Flutamide	Flutamide
Fluticasoni propionas	(1750)	Fluticasone propionate	Fluticasone (propionate de)	Fluticasone propionato
Flutrimazolium	(1424)	Flutrimazole	Flutrimazole	Flutrimazolo
Foeniculi amari fructus	(0824)	Fennel, bitter	Fenouil amer (fruit de)	Finocchio amaro
Foeniculi amari fructus aetheroleum	(1826)	Bitter-fennel fruit oil	Fruit de fenouil amer (huile essentielle de)	Finocchio amaro frutto essenza
Foeniculi dulcis fructus	(0825)	Fennel, sweet	Fenouil doux (fruit de)	Finocchio dolce
Formaldehydi solutio (35 per centum)	(0826)	Formaldehyde solution (35 per cent)	Formaldéhyde (solution de) à 35 pour cent	Formaldeide soluzione 35 per cento
Formoteroli fumaras dihydricus	(1724)	Formoterol fumarate dihydrate	Formotérol (fumarate de) dihydraté	Formoterolo fumarato diidrato
Foscarnetum natricum hexahydricum	(1520)	Foscarnet sodium hexahydrate	Foscarnet sodique hexahydraté	Foscarnet sodico esaidrato
Fosfomycinum calcicum	(1328)	Fosfomycin calcium	Fosfomycine calcique	Fosfomicina calcica
Fosfomycinum natricum	(1329)	Fosfomycin sodium	Fosfomycine sodique	Fosfomicina sodica
Fosfomycinum trometamol	(1425)	Fosfomycin trometamol	Fosfomycine trométamol	Fosfomicina trometamol
Framycetini sulfas	(0180)	Framycetin sulphate	Framycétine (sulfate de)	Framicetina solfato
Frangulae cortex	(0025)	Frangula bark	Bourdaïne	Frangola corteccia
Frangulae corticis extractum siccum normatum	(1214)	Frangula bark dry extract, standardised	Bourdaïne (extrait sec titré de)	Frangola estratto secco titolato
Fraxini folium	(1600)	Ash leaf	Frêne (feuille de)	Frassino foglia
Fructosum	(0188)	Fructose	Fructose	Fruttosio
Fucus vel Ascophyllum	(1426)	Kelp	Varech	Fuco
Fumariae herba	(1869)	Fumitory	Fumeterre	Fumaria
Furosemidum	(0391)	Furosemide	Furosémide	Furosemide
Galactosum	(1215)	Galactose	Galactose	Galattosio
Gallamini triethiodidum	(0181)	Gallamine triethiodide	Gallamine (triéthiodure de)	Gallamina trietioduro
Gelatina	(0330)	Gelatin	Gélatine	Gelatina

Gemcitabini hydrochloridum	(2306)	Gemcitabine hydrochloride	Gemcitabine (chlorhydrate de)	Gemcitabina cloridrato
Gemfibrozilum	(1694)	Gemfibrozil	Gemfibrozil	Gemfibrozil
Gentamicini sulfas	(0331)	Gentamicin sulphate	Gentamicine (sulfate de)	Gentamicina solfato
Gentianae radix	(0392)	Gentian root	Gentiane (racine de)	Genziana radice
Gentianae tinctura	(1870)	Gentian tincture	Gentiane (teinture de)	Genziana tintura
Ginkgonis folium	(1828)	Ginkgo leaf	Ginkgo (feuille de)	Ginkgo foglia
Ginseng radix	(1523)	Ginseng	Ginseng	Ginseng radice
Glibenclamidum	(0718)	Glibenclamide	Glibenclamide	Glibenclamide
Gliclazidum	(1524)	Gliclazide	Gliclazide	Gliclazide
Glimepiridum	(2223)	Glimepiride	Glimépiride	Glimepiride
Glipizidum	(0906)	Glipizide	Glipizide	Glipizide
Glucagonum humanum	(1635)	Glucagon, human	Glucagon humain	Glucagone umano
Glucosum anhydricum	(0177)	Glucose, anhydrous	Glucose anhydre	Glucosio anidro
Glucosum liquidum	(1330)	Glucose, liquid	Glucose liquide	Glucosio liquido
Glucosum liquidum dispersione desiccatum	(1525)	Glucose, liquid, spray-dried	Glucose liquide (nébulisé de)	Glucosio liquido, nebulizzato essiccato
Glucosum monohydricum	(0178)	Glucose monohydrate	Glucose monohydraté	Glucosio monoidrato
Glutathionum	(1670)	Glutathione	Glutathion	Glutatione
Glyceroli dibehenas	(1427)	Glycerol dibehenate	Glycérol (dibéhénate de)	Glicerolo dibeenato
Glyceroli distearas	(1428)	Glycerol distearate	Glycérol (distéarate de)	Glicerolo distearato
Glyceroli monocaprylas	(2213)	Glycerol monocaprylate	Glycérol (monocaprylate de)	Glicerolo monocaprilato
Glyceroli monocaprylocapras	(2392)	Glycerol monocaprylocaprate	Glycérol (monocaprylocaprate de)	Glicerolo monocaprilocaprato
Glyceroli monolinoleas	(1429)	Glycerol monolinoleate	Glycérol (monolinoléate de)	Glicerolo monolinoleato
Glyceroli mono-oleas	(1430)	Glycerol mono-oleates	Glycérol (mono-oléates de)	Glicerolo mono-oleato
Glyceroli monostearas 40-55	(0495)	Glycerol monostearate 40-55	Glycérol (monostéarate de) 40-55	Glicerolo monostearato 40-55
Glyceroli trinitratis solutio	(1331)	Glyceryl trinitrate solution	Glycérile (trinitrate de), solution de	Glicerolo trinitrato soluzione
Glycerolum	(0496)	Glycerol	Glycérol	Glicerolo
Glycerolum (85 per centum)	(0497)	Glycerol (85 per cent)	Glycérol à 85 pour cent	Glicerolo 85 per cento
Glycinum	(0614)	Glycine	Glycine	Glicina
Gonadorelini acetas	(0827)	Gonadorelin acetate	Gonadoréline (acétate de)	Gonadorelina acetato
Gonadotropinum chorionicum	(0498)	Gonadotrophin, chorionic	Gonadotropine chorionique	Gonadotropina corionica
Gonadotropinum sericum equinum ad usum veterinarium	(0719)	Gonadotrophin, equine serum, for veterinary use	Gonadotropine sérique équine pour usage vétérinaire	Gonadotropina sierica equina per uso veterinario
Goserelinum	(1636)	Goserelin	Goséréline	Goserelina
Gossypii oleum hydrogenatum	(1305)	Cottonseed oil, hydrogenated	Coton (huile de) hydrogénée	Olio di semi di cotone idrogenato
Gramicidinum	(0907)	Gramicidin	Gramicidine	Gramicidina
Graminis rhizoma	(1306)	Couch grass rhizome	Chiendent (rhizome de)	Gramigna rizoma
Granisetroni hydrochloridum	(1695)	Granisetron hydrochloride	Granisétron (chlorhydrate de)	Granisetron cloridrato
Griseofulvinum	(0182)	Griseofulvin	Griséofulvine	Griseofulvina
Guaiaecolum	(1978)	Guaiaecol	Gaïacol	Guaicolo
Guaiifenesinum	(0615)	Guaiifenesin	Guaifénesine	Guaifenesina
Guanethidini monosulfas	(0027)	Guanethidine monosulphate	Guanéthidine (monosulfate de)	Guanetidina monosolfato
Guar galactomannanum	(0908)	Guar galactomannan	Guar (galactomannane du)	Guar galattomannano
Halofantrini hydrochloridum	(1979)	Halofantrine hydrochloride	Halofantrine (chlorhydrate d')	Alofantrina cloridrato
Haloperidoli decanoas	(1431)	Haloperidol decanoate	Halopéridol (décanoate d')	Aloperidolo decanoato
Haloperidolum	(0616)	Haloperidol	Halopéridol	Aloperidolo
Halothanum	(0393)	Halothane	Halothane	Alotano
Hamamelidis folium	(0909)	Hamamelis leaf	Hamamélis (feuille d')	Amamelide foglia
Harpagophyti extractum siccum	(1871)	Devil's claw dry extract	Harpagophyton (extrait sec d')	Arpagofito estratto secco

Harpagophyti radix	(1095)	Devil's claw root	Harpagophyton (racine d')	Arpagofito radice
Hederæ folium	(2148)	Ivy leaf	Lierre (feuille de)	Edera foglia
Helianthi annui oleum raffinatum	(1371)	Sunflower oil, refined	Tournesol (huile de) raffinée	Olio di girasole raffinato
Helium	(2155)	Helium	Hélium	Elio
Heparina massae molecularis minoris	(0828)	Heparins, low-molecular-mass	Héparines de basse masse moléculaire	Eparina a bassa massa molecolare
Heparinum calcicum	(0332)	Heparin calcium	Héparine calcique	Eparina calcica
Heparinum natricum	(0333)	Heparin sodium	Héparine sodique	Eparina sodica
Heptaminoli hydrochloridum	(1980)	Heptaminol hydrochloride	Heptaminol (chlorhydrate d')	Eptaminolo cloridrato
Hexamidini diisetionas	(1436)	Hexamine diisetionate	Hexamidine (diisétionate d')	Esamidina diisetionato
Hexetidinum	(1221)	Hexetidine	Hexétidine	Esetidina
Hexobarbitalum	(0183)	Hexobarbital	Hexobarbital	Esobarbital
Hexylresorcinolum	(1437)	Hexylresorcinol	Hexylrésorcinol	Esilresorcinolo
Hibisci sabdariffae flos	(1623)	Roselle	Karkadé	Carcadé
Histamini dihydrochloridum	(0143)	Histamine dihydrochloride	Histamine (dichlorhydrate d')	Istamina dicloridrato
Histamini phosphas	(0144)	Histamine phosphate	Histamine (phosphate d')	Istamina fosfato
Histidini hydrochloridum monohydricum	(0910)	Histidine hydrochloride monohydrate	Histidine (chlorhydrate d') monohydraté	Istidina cloridrato monoidrato
Histidinum	(0911)	Histidine	Histidine	Istidina
Homatropini hydrobromidum	(0500)	Homatropine hydrobromide	Homatropine (bromhydrate d')	Omatropina bromidrato
Homatropini methylbromidum	(0720)	Homatropine methylbromide	Homatropine (méthylbromure d')	Omatropina metilbromuro
Hyaluronidasum	(0912)	Hyaluronidase	Hyaluronidase	Ialuronidasi
Hydralazini hydrochloridum	(0829)	Hydralazine hydrochloride	Hydralazine (chlorhydrate d')	Idralazina cloridrato
Hydrargyri dichloridum	(0120)	Mercuric chloride	Mercurique (chlorure)	Mercurio dicloruro
Hydrastis rhizoma	(1831)	Goldenseal rhizome	Hydrastis	Idraste rizoma (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Hydrochlorothiazidum	(0394)	Hydrochlorothiazide	Hydrochlorothiazide	Idroclorotiazide
Hydrocodoni hydrogenotartaras 2,5-hydricus	(1784)	Hydrocodone hydrogen tartrate 2,5-hydrate	Hydrocodone (hydrogénotartrate d') 2,5-hydraté	Idrocone idrogenotartrato 2,5-diidrato
Hydrocortisoni acetatas	(0334)	Hydrocortisone acetate	Hydrocortisone (acétate d')	Idrocortisone acetato
Hydrocortisoni hydrogenosuccinas	(0768)	Hydrocortisone hydrogen succinate	Hydrocortisone (hydrogénosuccinate d')	Idrocortisone idrogeno succinato
Hydrocortisonum	(0335)	Hydrocortisone	Hydrocortisone	Idrocortisone
Hydrogenii peroxidum 3 per centum	(0395)	Hydrogen peroxide solution (3 per cent)	Hydrogène (peroxyde d'), solution à 3 pour cent	Idrogeno perossido soluzione 3 per cento
Hydrogenii peroxidum 30 per centum	(0396)	Hydrogen peroxide solution (30 per cent)	Hydrogène (peroxyde d'), solution à 30 pour cent	Idrogeno perossido soluzione 30 per cento
Hydromorphoni hydrochloridum	(2099)	Hydromorphone hydrochloride	Hydromorphone (chlorhydrate de)	Idromorfone cloridrato
Hydroxocobalamini acetatas	(0913)	Hydroxocobalamin acetate	Hydroxocobalamine (acétate d')	Idroxocobalamina acetato
Hydroxocobalamini chloridum	(0914)	Hydroxocobalamin chloride	Hydroxocobalamine (chlorure d')	Idroxocobalamina cloruro
Hydroxocobalamini sulfas	(0915)	Hydroxocobalamin sulphate	Hydroxocobalamine (sulfate d')	Idroxocobalamina solfato
Hydroxycarbamidum	(1616)	Hydroxycarbamide	Hydroxycarbamide	Idrossicarbamide
Hydroxyethylcellulosum	(0336)	Hydroxyethylcellulose	Hydroxyéthylcellulose	Idrossietilcellulosa
Hydroxyethylis salicylas	(1225)	Hydroxyethyl salicylate	Hydroxyéthyle (salicylate d')	Idrossietile salicilato
Hydroxypropylbetadexum	(1804)	Hydroxypropylbetadex	Hydroxypropylbetadex	Idrossipropilbetadex
Hydroxypropylcellulosum	(0337)	Hydroxypropylcellulose	Hydroxypropylcellulose	Idrossipropilcellulosa

Hydroxyzini hydrochloridum	(0916)	Hydroxyzine hydrochloride	Hydroxyzine (chlorhydrate d')	Idroxizina cloridrato
Hymecromonum	(1786)	Hymecromone	Hymécromone	Imecromone
Hyoscini butylbromidum/ Scopolamini butylbromidum	(0737)	Hyoscine butylbromide	Scopolamine (butylbromure de)	Ioscina butilbromuro/ Scopolamina butilbromuro
Hyoscini hidrobromidum/ Scopolamini hydrobromidum	(0106)	Hyoscine hydrobromide	Scopolamine (bromhydrate de)	Ioscina bromidrato/ Scopolamina bromidrato
Hyoscinum/ Scopolaminum	(2167)	Hyoscine	Scopolamine	Ioscina/Scopolamina
Hyoscyamini sulfas	(0501)	Hyoscyamine sulphate	Hyoscyamine (sulfate d')	Iosciamina solfato
Hyperici herba	(1438)	St. John' wort	Millepertuis	Iperico
Hypromellosi phthalas	(0347)	Hypromellose phthalate	Hypromellose (phtalate d')	Ipromellosa ftalato
Hypromellosum	(0348)	Hypromellose	Hypromellose	Ipromellosa
Ibuprofenum	(0721)	Ibuprofen	Ibuprofène	Ibuprofene
Ichthammolum	(0917)	Ichthammol	Ictammol	Ictammolo
Idoxuridinum	(0669)	Idoxuridine	Idoxuridine	Idoxuridina
Iecoris aselli oleum A	(1192)	Cod-liver oil (type A)	Foie de morue (huile de) (type A)	Olio di fegato di merluzzo (tipo A)
Iecoris aselli oleum B	(1193)	Cod-liver oil (type B)	Foie de morue (huile de) (type B)	Olio di fegato di merluzzo (tipo B)
Ifosamidum	(1529)	Ifosfamide	Ifosfamide	Ifosfamide
Imipenemum	(1226)	Imipenem	Imipénem	Imipenem
Imipramini hydrochloridum	(0029)	Imipramine hydrochloride	Imipramine (chlorhydrate d')	Imipramina cloridrato
Immunoglobulinum anti-T lymphocytorum ex animale ad usum humanum	(1928)	Anti-T lymphocyte immunoglobulin for human use, animal	Immunoglobuline animale anti-lymphocytes T pour usage humain	Immunoglobulina anti-linfociti di origine animale per uso umano
Immunoglobulinum humanum anti-D	(0557)	Human anti-D immunoglobulin	Immunoglobuline humaine anti-D	Immunoglobulina umana anti-D
Immunoglobulinum humanum anti-D ad usum intravenosum	(1527)	Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration	Immunoglobuline humaine anti-D pour administration par voie intraveineuse	Immunoglobulina umana anti-D per uso endovenoso
Immunoglobulinum humanum hepatitis A	(0769)	Human hepatitis A immunoglobulin	Immunoglobuline humaine de l'hépatite A	Immunoglobulina umana antiepatite A
Immunoglobulinum humanum hepatitis B	(0722)	Human hepatitis B immunoglobulin	Immunoglobuline humaine de l'hépatite B	Immunoglobulina umana antiepatite B
Immunoglobulinum humanum hepatitis B ad usum intravenosum	(1016)	Human hepatitis B immunoglobulin for intravenous administration	Immunoglobuline humaine de l'hépatite B pour administration par voie intraveineuse	Immunoglobulina umana antiepatite B per uso endovenoso
Immunoglobulinum humanum morbillicum	(0397)	Human measles immunoglobulin	Immunoglobuline humaine rougeoleuse	Immunoglobulina umana antimorbillo
Immunoglobulinum humanum normale	(0338)	Human normal immunoglobulin	Immunoglobuline humaine normale	Immunoglobulina umana normale
Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum	(0918)	Human normal immunoglobulin for intravenous administration	Immunoglobuline humaine normale pour administration par voie intraveineuse	Immunoglobulina umana normale per uso endovenoso
Immunoglobulinum humanum rabicum	(0723)	Human rabies immunoglobulin	Immunoglobuline humaine rabique	Immunoglobulina umana antirabbia
Immunoglobulinum humanum rubellae	(0617)	Human rubella immunoglobulin	Immunoglobuline humaine rubéoleuse	Immunoglobulina umana antirosolia
Immunoglobulinum humanum tetanicum	(0398)	Human tetanus immunoglobulin	Immunoglobuline humaine tétanique	Immunoglobulina umana antitetanica
Immunoglobulinum humanum varicellae	(0724)	Human varicella immunoglobulin	Immunoglobuline humaine de la varicelle	Immunoglobulina umana antivariella
Immunoglobulinum humanum varicellae ad usum intravenosum	(1528)	Human varicella immunoglobulin for intravenous administration	Immunoglobuline humaine de la varicelle pour administration par voie intraveineuse	Immunoglobulina umana antivariella per uso endovenoso

Indapamidum	(1108)	Indapamide	Indapamide	Indapamide
Indinaviri sulfas	(2214)	Indinavir sulphate	Indinavir (sulfate d')	Indinavir solfato
Indometacinum	(0092)	Indometacin	Indométacine	Indometacina
<i>myo</i> -Inositolum	(1805)	<i>myo</i> -Inositol	<i>myo</i> -Inositol	<i>mio</i> -Inositolo
Insulini zinci amorphi suspensio iniectionabilis	(0835)	Insulin zinc injectable suspension (amorphous)	Insuline-zinc amorphe (suspension injectable d')	Insulina-zinco amorfa sospensione iniettabile
Insulini zinci cristallini suspensio iniectionabilis	(0836)	Insulin zinc injectable suspension (crystalline)	Insuline-zinc cristalline (suspension injectable d')	Insulina-zinco cristallina sospensione iniettabile
Insulini zinci suspensio iniectionabilis	(0837)	Insulin zinc injectable suspension	Insuline-zinc (suspension injectable d')	Insulina-zinco sospensione iniettabile
Insulinum aspartum	(2084)	Insulin aspart	Insuline asparte	Insulina aspartato
Insulinum biphasicum iniectionabile	(0831)	Insulin injection, biphasic	Insuline biphasique (préparation injectable d')	Insulina bifasica preparazione iniettabile
Insulinum bovinum	(1637)	Insulin, bovine	Insuline bovine	Insulina bovina
Insulinum humanum	(0838)	Insulin, human	Insuline humaine	Insulina umana
Insulinum isophanum biphasicum iniectionabile	(0832)	Insulin injection, biphasic isophane	Insuline-isophane biphasique (préparation injectable d')	Insulina isofano bifasica preparazione iniettabile
Insulinum isophanum iniectionabile	(0833)	Insulin injection, isophane	Insuline-isophane (préparation injectable d')	Insulina isofano preparazione iniettabile
Insulinum lisprum	(2085)	Insulin lispro	Insuline lispro	Insulina lispro
Insulinum porcinum	(1638)	Insulin, porcine	Insuline porcine	Insulina porcina
Insulinum solubile iniectionabile	(0834)	Insulin injection, soluble	Insuline soluble (préparation injectable d')	Insulina solubile preparazione iniettabile
Interferoni alfa-2 solutio concentrata	(1110)	Interferon alfa-2 concentrated solution	Interféron alfa-2 (solution concentrée d')	Interferone alfa-2 soluzione concentrata
Interferoni gamma-1b solutio concentrata	(1440)	Interferon gamma-1b concentrated solution	Interféron gamma-1b (solution concentrée d')	Interferone gamma-1b soluzione concentrata
Iodum	(0031)	Iodine	Iode	Iodio
Iohexolum	(1114)	Iohexol	Iohexol	Ioexolo
Iopamidolum	(1115)	Iopamidol	Iopamidol	Iopamidolo
Iotrolanum	(1754)	Iotrolan	Iotrolane	Iotrolan
Ipecacuanhae extractum fluidum normatum	(1875)	Ipecacuanha liquid extract, standardised	Ipécacuanha (extrait fluide titré d')	Ipecacuana estratto fluido titolato (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Ipecacuanhae pulvis normatus	(0093)	Ipecacuanha, prepared	Ipécacuanha (poudre titrée d')	Ipecacuana polvere titolata
Ipecacuanhae radix	(0094)	Ipecacuanha root	Ipécacuanha (racine d')	Ipecacuana radice
Ipecacuanhae tinctura normata	(1530)	Ipecacuanha tincture, standardised	Ipécacuanha (teinture titrée d')	Ipecacuana tintura titolata
Ipratropii bromidum	(0919)	Ipratropium bromide	Ipratropium (bromure d')	Ipratropio bromuro
Isoconazoli nitras	(1017)	Isoconazole nitrate	Isoconazole (nitrate d')	Isoconazolo nitrato
Isoconazolium	(1018)	Isoconazole	Isoconazole	Isoconazolo
Isofluranum	(1673)	Isoflurane	Isoflurane	Isoflurano
Isoleucinum	(0770)	Isoleucine	Isoleucine	Isoleucina
Isomaltum	(1531)	Isomalt	Isomalt	Isomalto
Isoniazidum	(0146)	Isoniazid	Isoniazide	Isoniazide
Isoprenalini hydrochloridum	(1332)	Isoprenaline hydrochloride	Isoprénaline (chlorhydrate d')	Isoprenalina cloridrato
Isoprenalini sulfas	(0502)	Isoprenaline sulphate	Isoprénaline (sulfate d')	Isoprenalina solfato
Isopropylis myristas	(0725)	Isopropyl myristate	Isopropyle (myristate d')	Isopropile miristato
Isopropylis palmitas	(0839)	Isopropyl palmitate	Isopropyle (palmitate d')	Isopropile palmitato
Isosorbidi dinitras dilutus	(1117)	Isosorbide dinitrate, diluted	Isosorbide (dinitrate d')	Isosorbide dinitrato diluito
Isosorbidi mononitras dilutus	(1118)	Isosorbide mononitrate, diluted	Isosorbide (mononitrate d')	Isosorbide mononitrato diluito
Isotretinoinum	(1019)	Isotretinoin	Isotrétinoïne	Isotretinoina
Isoxsuprini hydrochloridum	(1119)	Isoxsuprine hydrochloride	Isoxsuprine (chlorhydrate d')	Isoxsuprina cloridrato
Isradipinum	(2110)	Isradipine	Isradipine	Isradipina

Itraconazolum	(1335)	Itraconazole	Itraconazole	Itraconazolo
Iuniperi aetheroleum	(1832)	Juniper oil	Genièvre (huile essentielle de)	Ginepro essenza
Iuniperi pseudo-fructus	(1532)	Juniper	Genièvre	Ginepro
Ivermectinum	(1336)	Ivermectin	Ivermectine	Ivermectina
Josamycini propionas	(1982)	Josamycin propionate	Josamycine (propionate de)	Iosamicina propionato
Josamycinum	(1983)	Josamycin	Josamycine	Iosamicina
Kalii acetas	(1139)	Potassium acetate	Potassium (acétate de)	Potassio acetato
Kalii bromidum	(0184)	Potassium bromide	Potassium (bromure de)	Potassio bromuro
Kalii carbonas	(1557)	Potassium carbonate	Potassium (carbonate de)	Potassio carbonato
Kalii chloridum	(0185)	Potassium chloride	Potassium (chlorure de)	Potassio cloruro
Kalii citras	(0400)	Potassium citrate	Potassium (citrate de)	Potassio citrato
Kalii clavulanas	(1140)	Potassium clavulanate	Potassium (clavulanate de)	Potassio clavulanato
Kalii clavulanas dilutus	(1653)	Potassium clavulanate, diluted	Potassium (clavulanate de) dilué	Potassio clavulanato diluito
Kalii dihydrogenophosphas	(0920)	Potassium dihydrogen phosphate	Phosphate monopotassique	Potassio fosfato monobasico
Kalii hydrogenoaspartas hemihydricus	(2076)	Potassium hydrogen aspartate hemihydrate	Potassium (hydrogénoaspartate de) hemihydraté	Potassio idrogeno aspartato emidrato (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Kalii hydrogenocarbonas	(1141)	Potassium hydrogen carbonate	Potassium (bicarbonate de)	Potassio bicarbonato
Kalii hydrogenotartras	(1984)	Potassium hydrogen tartrate	Potassium (hydrogénotartrate de)	Potassio idrogeno tartrato
Kalii hydroxidum	(0840)	Potassium hydroxide	Potassium (hydroxyde de)	Potassio idrossido
Kalii iodidum	(0186)	Potassium iodide	Potassium (iodure de)	Potassio ioduro
Kalii metabisulfis	(2075)	Potassium metabisulphite	Potassium (métabisulfite de)	Potassio metabisolfito
Kalii natrii tartras tetrahydricus	(1986)	Potassium sodium tartrate tetrahydrate	Potassium et de sodium (tartrate de) tétrahydraté	Potassio e sodio tartrato tetraidrato
Kalii nitras	(1465)	Potassium nitrate	Potassium (nitrate de)	Potassio nitrato
Kalii perchloras	(1987)	Potassium perchlorate	Potassium (perchlorate de)	Potassio perclorato
Kalii permanganas	(0121)	Potassium permanganate	Potassium (permanganate de)	Potassio permanganato
Kalii sorbas	(0618)	Potassium sorbate	Potassium (sorbate de)	Potassio sorbato
Kalii sulfas	(1622)	Potassium sulphate	Potassium (sulfate de)	Potassio solfato
Kanamycini monosulfas	(0032)	Kanamycin monosulphate	Kanamycine (monosulfate de)	Kanamicina monosolfato
Kanamycini sulfas acidus	(0033)	Kanamycin acid sulphate	Kanamycine (sulfate acide de)	Kanamicina solfato acido
Kaolinum ponderosum	(0503)	Kaolin, heavy	Kaolin lourd	Caolino pesante
Ketamini hydrochloridum	(1020)	Ketamine hydrochloride	Kétamine (chlorhydrate de)	Ketamina cloridrato
Ketoconazolum	(0921)	Ketoconazole	Kétoconazole	Ketoconazolo
Ketoprofenum	(0922)	Ketoprofen	Kétoprofène	Ketoprofene
Ketorolacum trometamolom	(1755)	Ketorolac trometamol	Kétorolac trométamol	Ketorolac trometamolo
Ketotifeni hydrogenofumaras	(1592)	Ketotifen hydrogen fumarate	Kétotifène (hydrogénofumarate de)	Ketotifene idrogeno fumarato
Labetaloli hydrochloridum	(0923)	Labetalol hydrochloride	Labétalol (chlorhydrate de)	Labetalolo cloridrato
Lacca	(1149)	Shellac	Gommès laques	Gomma lacca
Lactitolum monohydricum	(1337)	Lactitol monohydrate	Lactitol monohydraté	Lattitolo monoidrato
Lactosum anhydricum	(1061)	Lactose, anhydrous	Lactose anhydre	Lattosio anidro
Lactosum monohydricum	(0187)	Lactose monohydrate	Lactose monohydraté	Lattosio monoidrato
Lactulosum	(1230)	Lactulose	Lactulose	Lattulosio
Lactulosum liquidum	(0924)	Lactulose, liquid	Lactulose liquide	Lattulosio liquido
Lamivudinum	(2217)	Lamivudine	Lamivudine	Lamivudina
Lansoprazolum	(2219)	Lansoprazole	Lansoprazole	Lansoprazolo
Lanugo cellulosi absorbens	(0034)	Viscose wadding, absorbent	Ouate viscose hydrophile	Ovatta di viscosa idrofila
Lanugo gossypii absorbens	(0036)	Cotton, absorbent	Coton hydrophile	Ovatta di cotone idrofilo
Lavandulae aetheroleum	(1338)	Lavender oil	Lavande (huile essentielle de)	Lavanda essenza

Lavandulae flos	(1534)	Lavender flower	Lavande (fleur de)	Lavanda fiore
Leflumidum	(2330)	Leflunomide	Léflunomide	Leflunomide
Leonuri cardiaca herba	(1833)	Motherwort	Agripaume	Cardiaca
Letrozolum	(2334)	Letrozole	Létrozole	Letrozolo
Leucinum	(0771)	Leucine	Leucine	Leucina
Leuprorelinum	(1442)	Leuprorelin	Leuproréline	Leuprorelina
Levamisoli hydrochloridum	(0726)	Levamisole hydrochloride	Lévamisole (chlorhydrate de)	Levamisolo cloridrato
Levamisolum ad usum veterinarium	(1728)	Levamisole for veterinary use	Lévamisole pour usage vétérinaire	Levamisolo per uso veterinario
Levistici radix	(1233)	Lovage root	Livèche (racine de)	Levistico radice
Levocabastini hydrochloridum	(1484)	Levocabastine hydrochloride	Lévocabastine (chlorhydrate de)	Levocabastina cloridrato
Levocarnitinum	(1339)	Levocarnitine	Lévocarnitine	Levocarnitina
Levodopum	(0038)	Levodopa	Lévodopa	Levodopa
Levodropropizinium	(1535)	Levodropropizine	Lévodropropizine	Levodropropizina
Levomentholum	(0619)	Levomenthol	Lévomenthol	Levomentolo
Levomepromazini hydrochloridum	(0505)	Levomepromazine hydrochloride	Lévomépromazine (chlorhydrate de)	Levomepromazina cloridrato
Levomepromazini maleas	(0925)	Levomepromazine maleate	Lévomépromazine (maléate de)	Levomepromazina maleato
Levomethadoni hydrochloridum	(1787)	Levomethadone hydrochloride	Lévométhadone (chlorhydrate de)	Levometadone cloridrato
Levonorgestrelum	(0926)	Levonorgestrel	Lévonorgestrel	Levonorgestrel
Levothyroxinum natricum	(0401)	Levothyroxine sodium	Lévothyroxine sodique	Levotiroxina sodica
Lichen islandicus	(1439)	Iceland moss	Lichen d'Islande	Lichene islandico
Lidocaini hydrochloridum	(0227)	Lidocaine hydrochloride	Lidocaïne (chlorhydrate de)	Lidocaina cloridrato
Lidocainum	(0727)	Lidocaine	Lidocaïne	Lidocaina
Limonis aetheroleum	(0620)	Lemon oil	Citron (huile essentielle de)	Limone essenza
Lincomycini hydrochloridum	(0583)	Lincomycin hydrochloride	Lincomycine (chlorhydrate de)	Lincomicina cloridrato
Lindanum	(0772)	Lindane	Lindane	Lindano
Lini oleum virginale	(1908)	Linseed oil, virgin	Lin (huile de) vierge	Olio di semi di lino vergine
Lini semen	(0095)	Linseed	Lin (graine de)	Lino seme
Liothyroninum natricum	(0728)	Liothyronine sodium	Liothyronine sodique	Liotironina sodica
Liquiritiae extractum fluidum ethanolicum normatum	(1536)	Liquorice ethanolic liquid extract, standardised	Réglisse (extrait fluide éthanolique titré de)	Liquirizia estratto etanolic fluido, titolato
Liquiritiae radix	(0277)	Liquorice root	Réglisse (racine de)	Liquirizia radice
Lisinoprilum dihydricum	(1120)	Lisinopril dihydrate	Lisinopril dihydraté	Lisinopril diidrato
Lithii carbonas	(0228)	Lithium carbonate	Lithium (carbonate de)	Litio carbonato
Lithii citras	(0621)	Lithium citrate	Lithium (citrate de)	Litio citrato
Lobelini hydrochloridum	(1988)	Lobeline hydrochloride	Lobéline (chlorhydrate de)	Lobelina cloridrato
Lomustinum	(0928)	Lomustine	Lomustine	Lomustina
Loperamidi hydrochloridum	(0929)	Loperamide hydrochloride	Lopéramide (chlorhydrate de)	Loperamide cloridrato
Loperamidi oxidum monohydricum	(1729)	Loperamide oxide monohydrate	Lopéramide (oxyde de) monohydraté	Loperamide ossido monoidrato
Loratadinum	(2124)	Loratadine	Loratadine	Loratidina
Lorazepamum	(1121)	Lorazepam	Lorazépam	Lorazepam
Lovastatinum	(1538)	Lovastatin	Lovastatine	Lovastatina
Lupuli flos	(1222)	Hop strobile	Houblon (cône de)	Luppolo fiore
Lymecyclinum	(1654)	Lymecycline	Lymécycline	Limeciclina
Lynestrenolum	(0558)	Lynestrenol	Lynestrénol	Linestrenolo
Lysini acetatas	(2114)	Lysine acetate	Lysine (acétate de)	Lisina acetato
Lysini hydrochloridum	(0930)	Lysine hydrochloride	Lysine (chlorhydrate de)	Lisina cloridrato
Lythri herba	(1537)	Loosestrife	Salicaire	Salcerella (Salicaria)
Macrogol 20 glyceroli monostearas	(2044)	Macrogol 20 glycerol monostearate	Macrogol 20 (glycérol monostéarate de)	Macrogol 20 glicerolo monostearato
Macrogol 40 sorbitoli heptaoleas	(2396)	Macrogol 40 sorbitol heptaoleate	Macrogol 40 sorbitol (heptaoléate de)	Macrogol 40 sorbitolo eptanoaleato

Macrogol 6 glyceroli caprylocapras	(1443)	Macrogol 6 glycerol caprylocaprate	Macrogol 6 glycérol (caprylocaprate de)	Macrogol 6 glicerolo caprilocaprato
Macrogola	(1444)	Macrogols	Macrogols	Macrogoli
Macrogolglyceridorum caprylocaprates	(1184)	Caprylocaproyl macrogolglycerides	Macrogolglycérides caprylocapriques	Macrogolglyceridi caprilocaprici
Macrogolglyceridorum laurates	(1231)	Lauroyl macrogolglycerides	Macrogolglycérides lauriques	Macrogolglyceridi laurici
Macrogolglyceridorum linoleates	(1232)	Linoleoyl macrogolglycerides	Macrogolglycérides linoléiques	Macrogolglyceridi linoleici
Macrogolglyceridorum oleates	(1249)	Oleoyl macrogolglycerides	Macrogolglycérides oléiques	Macrogolglyceridi oleici
Macrogolglyceridorum stearates	(1268)	Stearoyl macrogolglycerides	Macrogolglycérides stéariques	Macrogolglyceridi stearici
Macrogolglyceroli cocoates	(1122)	Macrogolglycerol cocoates	Macrogolglycérol (cocoates de)	Macrogolglycerolo cocoato
Macrogolglyceroli hydroxystearas	(1083)	Macrogolglycerol hydroxystearate	Macrogolglycérol (hydroxystéarate de)	Macrogolglycerolo idrossistearato
Macrogolglyceroli ricinoleas	(1082)	Macrogolglycerol ricinoleate	Macrogolglycérol (ricinoléate de)	Macrogolglycerolo ricinoleato
Macrogoli 15 hydroxystearas	(2052)	Macrogol 15 hydroxystearate	Macrogol 15 (hydroxystéarate de)	Macrogol 15 idrossistearato
Macrogoli aether cetostearylicus	(1123)	Macrogol cetostearyl ether	Macrogol (éter cetostéarylique de)	Macrogol cetostearile etere
Macrogoli aether laurilicus	(1124)	Macrogol lauryl ether	Macrogol (éter laurique de)	Macrogol laurile etere
Macrogoli aether oleicus	(1125)	Macrogol oleyl ether	Macrogol (éter oléique de)	Macrogol oleile etere
Macrogoli aether stearylicus	(1340)	Macrogol stearyl ether	Macrogol (éter stéarylique de)	Macrogol stearile etere
Macrogoli oleas	(1618)	Macrogol oleate	Macrogol (oléate de)	Macrogol oleato
Macrogoli stearas	(1234)	Macrogol stearate	Macrogol (stéarate de)	Macrogol stearato
Magaldratum	(1539)	Magaldrate	Magaldrate	Magaldrato
Magnesium acetate tetrahydricus	(2035)	Magnesium acetate tetrahydrate	Magnésium (acetate de) tetrahydraté	Magnesium acetato tetraidrato <i>(sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)</i>
Magnesium aspartate dihydricus	(1445)	Magnesium aspartate dihydrate	Magnésium (aspartate de) dihydraté	Magnesium aspartato diidrato
Magnesium chloride 4,5-hydricum	(1341)	Magnesium chloride 4,5-hydrate	Magnésium (chlorure de) 4,5-hydraté	Magnesium cloruro 4,5-idrato
Magnesium chloride hexahydricum	(0402)	Magnesium chloride hexahydrate	Magnésium (chlorure de) hexahydraté	Magnesium cloruro esaidrato
Magnesium citras, anhydrous	(2339)	Magnesium citrate, anhydrous	Magnésium (citrate de) anhydre	Magnesium citrato anidro
Magnesium glycerophosphas	(1446)	Magnesium glycerophosphate	Magnésium (glycérophosphate de)	Magnesium glicerofosfato
Magnesium hydroxidum	(0039)	Magnesium hydroxide	Magnésium (hydroxyde de)	Magnesium idrossido
Magnesium lactas dihydricus	(2160)	Magnesium lactate dihydrate	Magnésium (lactate de) dihydraté	Magnesium lattato diidrato
Magnesium oxidum leve	(0040)	Magnesium oxide, light	Magnésium (oxyde de) léger	Magnesium ossido leggero
Magnesium oxidum ponderosum	(0041)	Magnesium oxide, heavy	Magnésium (oxyde de) lourd	Magnesium ossido pesante
Magnesium peroxidum	(1540)	Magnesium peroxide	Magnésium (peroxyde de)	Magnesium perossido
Magnesium pidolas	(1619)	Magnesium pidolate	Magnésium (pidolate de)	Magnesium pidolato
Magnesium stearas	(0229)	Magnesium stearate	Magnésium (stéarate de)	Magnesium stearato
Magnesium subcarbonas levis	(0042)	Magnesium carbonate, light	Magnésium (carbonate de) léger	Magnesium carbonato leggero
Magnesium subcarbonas ponderosus	(0043)	Magnesium carbonate, heavy	Magnésium (carbonate de) lourd	Magnesium carbonato pesante
Magnesium sulfas heptahydricus	(0044)	Magnesium sulphate heptahydrate	Magnésium (sulfate de) heptadihydraté	Magnesium solfato eptaidrato
Magnesium trisilicas	(0403)	Magnesium trisilicate	Magnésium (trisilicate de)	Magnesium trisilicato
Malathionum	(1343)	Malathion	Malathion	Malation
Maltitolum	(1235)	Maltitol	Maltitol	Maltitolo

Maltitolum liquidum	(1236)	Maltitol, liquid	Maltitol liquide	Maltitolo liquido
Maltodextrinum	(1542)	Maltodextrin	Maltodextrine	Maltodestrina
Malvae sylvestris flos	(1541)	Mallow flower	Mauve (fleur de)	Malva fiore
Mangani glycerophosphas hydricus	(2163)	Manganese glycerophosphate, hydrated	Manganèse (glycérophosphate de) hydraté	Manganese glicerofosfato idratato
Mangani sulfas monohydricus	(1543)	Manganese sulphate monohydrate	Manganèse (sulfate de) monohydraté	Manganese solfato monoidrato
Mannitolum	(0559)	Mannitol	Mannitol	Mannitolo
Maprotilini hydrochloridum	(1237)	Maprotiline hydrochloride	Maprotiline (chlorhydrate de)	Maprotilina cloridrato
Marrubii herba	(1835)	White horehound	Marrube blanc (parties aériennes fleuries de)	Marrubio bianco (parti aeree fiorite)
Mastix	(1876)	Mastic	Mastic	Mastice
Matricariae aetheroleum	(1836)	Matricaria oil	Matricaire (huile essentielle de)	Camomilla essenza
Matricariae extractum fluidum	(1544)	Matricaria liquid extract	Matricaire (extrait fluide de)	Camomilla estratto liquido
Matricariae flos	(0404)	Matricaria flower	Matricaire (fleur de)	Camomilla comune fiore
Maydis amyllum	(0344)	Maize starch	Amidon de maïs	Amido di mais
Maydis oleum raffinatum	(1342)	Maize oil, refined	Mais (huile de) raffinée	Olio di mais raffinato
Mebendazolium	(0845)	Mebendazole	Mébendazole	Mebendazolo
Meclozini hydrochloridum	(0622)	Meclozine hydrochloride	Méclozine (chlorhydrate de)	Meclozina cloridrato
Medroxyprogesteroni acetas	(0673)	Medroxyprogesterone acetate	Médroxyprogestérone (acétate de)	Medrossiprogesterone acetato
Mefloquini hydrochloridum	(1241)	Mefloquine hydrochloride	Méfloquine (chlorhydrate de)	Meflochina cloridrato
Megestrol acetas	(1593)	Megestrol acetate	Mégestrol (acétate de)	Megestrol acetato
Megluminum	(2055)	Meglumine	Meglumine	Meglumina
Mel	(2051)	Honey	Miel	Miele
Melaleuca aetheroleum	(1837)	Tea tree oil	Mélaleuca (huile essentielle de)	Melaleuca essenza
Meliloti herba	(2120)	Melilot	Mélilot	Meliloto
Melissae folium	(1447)	Melissa leaf	Mélisse (feuille de)	Melissa foglia
Menadionum	(0507)	Menadione	Ménadione	Menadione
Menthae arvensis aetheroleum partim mentholi depletum	(1838)	Mint oil, partly dementholised	Mentha arvensis (huile essentielle partiellement démentholée de)	Menta essenza parzialmente dementolizzata
Menthae piperitae aetheroleum	(0405)	Peppermint oil	Menthe poivrée (huile essentielle de)	Menta essenza
Menthae piperitae folium	(0406)	Peppermint leaf	Menthe poivrée (feuille de)	Menta piperita foglia
Mentholum racemicum	(0623)	Menthol, racemic	Menthol racémique	Mentolo racemico
Menyanthis trifoliatae folium	(1605)	Bogbean leaf	Ményanthe	Trifoglio fibrino
Mepivacaini hydrochloridum	(1242)	Mepivacaine hydrochloride	Mépivacaïne (chlorhydrate de)	Mepivacaina cloridrato
Meprobamatium	(0407)	Meprobamate	Méprobamate	Meprobamato
Mepyramini maleas	(0278)	Mepyramine maleate	Mépyramine (maléate de)	Mepiramina maleato
Mercaptopurinum	(0096)	Mercaptopurine	Mercaptopurine	Mercaptopurina
Mesalazinum	(1699)	Mesalazine	Mésalazine	Mesalazina
Mesnum	(1674)	Mesna	Mesna	Mesna
Mesterololum	(1730)	Mesterolone	Méstérolone	Mesterolone
Mestranolum	(0509)	Mestranol	Mestranol	Mestranolo
Metacresolum	(2077)	Metacresol	Métacrésol	Metacresolo
Metamizolum natricum	(1346)	Metamizole sodium	Métamizole sodique	Metamizolo sodico
Metformini hydrochloridum	(0931)	Metformin hydrochloride	Métformine (chlorhydrate de)	Metformina cloridrato
Methadoni hydrochloridum	(0408)	Methadone hydrochloride	Méthadone (chlorhydrate de)	Metadone cloridrato
Methanolium	(1989)	Methanol	Méthanol	Metanolo
Methaqualonium	(0510)	Methaqualone	Méthaqualone	Metaqualone
Methenaminum	(1545)	Methenamine	Méthénamine	Metenamina

Methioninum	(1027)	Methionine	Méthionine	Metionina
Methotrexatum	(0560)	Methotrexate	Méthotrexate	Metotrexato
Methylatropini bromidum	(0511)	Methylatropine bromide	Méthylatropine (bromure de)	Metilatropina bromuro
Methylatropini nitras	(0512)	Methylatropine nitrate	Méthylatropine (nitrate de)	Metilatropina nitrato
Methylcellulosum	(0345)	Methylcellulose	Méthylcellulose	Metilcellulosa
Methyldopum	(0045)	Methyldopa	Méthyldopa	Metildopa
Methyleni chloridum	(0932)	Methylene chloride	Méthylène (chlorure de)	Diclorometano
Methylergometrini maleas	(1788)	Methylergometrine maleate	Méthylergometrine (maléate de)	Metilergometrina maleato
Methylhydroxyethylcellulosum	(0346)	Methylhydroxyethylcellulose	Méthylhydroxyéthylcellulose	Metilidrossietilcellulosa
Methylis nicotinas	(2129)	Methyl nicotinate	Méthyle (nicotinate de)	Metile nicotinato
Methylis parahydroxybenzoas	(0409)	Methyl parahydroxybenzoate	Méthyle (parahydroxybenzoate de)	Metile paraidrossibenzoato
Methylis parahydroxybenzoas natricum	(1262)	Sodium methyl parahydroxybenzoate	Méthyle (parahydroxybenzoate de) sodique	Metile paraidrossibenzoato sodico
Methylis salicylas	(0230)	Methyl salicylate	Méthyle (salicylate de)	Metile salicilato
Methylphenobarbitalum	(0189)	Methylphenobarbital	Méthylphénobarbital	Metilfenobarbital
Methylprednisoloni acetas	(0933)	Methylprednisolone acetate	Méthylprednisolone (acétate de)	Metilprednisolone acetato
Methylprednisoloni hydrogenosuccinas	(1131)	Methylprednisolone hydrogen succinate	Méthylprednisolone (hydrogénosuccinate de)	Metilprednisolone idrogeno succinato
Methylprednisolonum	(0561)	Methylprednisolone	Méthylprednisolone	Metilprednisolone
<i>N</i> -Methylpyrrolidonum	(1675)	<i>N</i> -Methylpyrrolidone	Methylpyrrolidone- <i>N</i> -	<i>N</i> -Metilpirrolidone
Methylrosanilini chloridum	(1990)	Methylrosanilinium chloride	Méthylrosanilinium (chlorure de)	Metilrosanilinio cloruro
Methyltestosteronum	(0410)	Methyltestosterone	Méthyltestostérone	Metiltestosterone
Methylthioninii chloridum	(1132)	Methylthioninium chloride	Méthylthioninium (chlorure de)	Metiltioninio cloruro
DL-Methioninum	(0624)	DL-Methionine	DL-Méthionine	DL-Metionina
Metixeni hydrochloridum	(1347)	Metixene hydrochloride	Métixène (chlorhydrate de)	Metixene cloridrato
Metoclopramidi hydrochloridum	(0674)	Metoclopramide hydrochloride	Métoclopramide (chlorhydrate de)	Metoclopramide cloridrato
Metoclopramidum	(1348)	Metoclopramide	Métoclopramide	Metoclopramide
Metolazonum	(1757)	Metolazone	Métolazone	Metolazone
Metoprololi succinas	(1448)	Metoprolol succinate	Métoprolol (succinate de)	Metoprololo succinato
Metoprololi tartras	(1028)	Metoprolol tartrate	Métoprolol (tartrate de)	Metoprololo tartrato
Metrifonatum	(1133)	Metrifonate	Métrifonate	Metrifonato
Metronidazoli benzoas	(0934)	Metronidazole benzoate	Métronidazole (benzoate de)	Metronidazolo benzoato
Metronidazolium	(0675)	Metronidazole	Métronidazole	Metronidazolo
Mexiletini hydrochloridum	(1029)	Mexiletine hydrochloride	Mexilétine (chlorhydrate de)	Mexiletina cloridrato
Mianserini hydrochloridum	(0846)	Mianserin hydrochloride	Miansérine (chlorhydrate de)	Mianserina cloridrato
Miconazoli nitras	(0513)	Miconazole nitrate	Miconazole (nitrate de)	Miconazolo nitrato
Miconazolium	(0935)	Miconazole	Miconazole	Miconazolo
Midazolamum	(0936)	Midazolam	Midazolam	Midazolam
Millefolii herba	(1382)	Yarrow	Achillée millefeuille	Achillea millefoglie
Minocyclini hydrochloridum	(1030)	Minocycline hydrochloride	Minocycline (chlorhydrate de)	Minociclina cloridrato
Minoxidilum	(0937)	Minoxidil	Minoxidil	Minoxidil
Mirtazapinum	(2338)	Mirtazapine	Mirtazapine	Mirtazapina
Misoprostolum	(1731)	Misoprostol	Misoprostol	Misoprostolo
Mitomycinum	(1655)	Mitomycin	Mitomycine	Mitomicina
Mitoxantroni hydrochloridum	(1243)	Mitoxantrone hydrochloride	Mitoxantrone (chlorhydrate de)	Mitoxantrone cloridrato
Modafinilum	(2307)	Modafinil	Modafinil	Modafinil
Molgramostimi solutio concentrata	(1641)	Molgramostim concentrated solution	Molgramostim (solution concentrée de)	Molgramostim soluzione concentrata
Mometasoni furoas	(1449)	Mometasone furoate	Mométasone (furoate de)	Mometasone furoato

Moranteli hydrogenotartras ad usum veterinarium	(1546)	Morantel hydrogen tartrate for veterinary use	Morantel (hydrogénotartrate de) pour usage vétérinaire	Morantel idrogeno tartrato per uso veterinario
Morphini hydrochloridum	(0097)	Morphine hydrochloride	Morphine (chlorhydrate de)	Morfina cloridrato
Morphini sulfas	(1244)	Morphine sulphate	Morphine (sulfate de)	Morfina solfato
Moxidectium ad usum veterinarium	(1656)	Moxidectin for veterinary use	Moxidectine pour usage vétérinaire	Moxidectina per uso veterinario
Moxifloxacini hydrochloridum	(2254)	Moxifloxacin hydrochloride	Moxifloxacin (chlorhydrate de)	Moxifloxacina cloridrato
Moxonidinum	(1758)	Moxonidine	Moxonidine	Moxonidina
Mupirocinum	(1450)	Mupirocin	Mupirocine	Mupirocina
Mupirocinum calcicum	(1451)	Mupirocin calcium	Mupirocine calcique	Mupirocina calcica
Mycophenolas mofetil	(1700)	Mycophenolate mofetil	Mycophénolate mofétil	Micofenolato mofetile
Myristicae fragrantis aetheroleum	(1552)	Nutmeg oil	Noix muscade (huile essentielle de)	Noce moscata essenza
Myrrha	(1349)	Myrrh	Myrrhe	Mirra
Myrrhae tinctura	(1877)	Myrrh tincture	Myrrhe (teinture de)	Mirra tintura
Myrtilli fructus recens	(1602)	Bilberry fruit, fresh	Myrtille (fruit frais de)	Mirtillo nero frutto fresco
Myrtilli fructus siccum	(1588)	Bilberry fruit, dried	Myrtille (fruit sec de)	Mirtillo nero frutto secco
Nabumetinum	(1350)	Nabumetone	Nabumétone	Nabumetone
Nadololum	(1789)	Nadolol	Nadolol	Nadololo
Nadroparinum calcicum	(1134)	Nadroparin calcium	Nadroparine calcique	Nadroparina calcica
Naftidrofuryli hydro- genooxalas	(1594)	Naftidrofuryl hydrogen oxalate	Naftidrofuryl (hydrogénooxalate de)	Naftidrofurile idrogeno ossalato
Naloxoni hydrochloridum dihydricum	(0729)	Naloxone hydrochloride dihydrate	Naloxone (chlorhydrate de) dihydraté	Naloxone cloridrato diidrato
Naltrexoni hydrochloridum	(1790)	Naltrexone hydrochloride	Naltrexone (chlorhydrate de)	Naltrexone cloridrato
Nandroloni decanoas	(1992)	Nandrolone decanoate	Nandrolone (décanoate de)	Nandrolone decanoato
Naphazolini hydro- chloridum	(0730)	Naphazoline hydrochloride	Naphazoline (chlorhydrate de)	Nafazolina cloridrato
Naphazolini nitras	(0147)	Naphazoline nitrate	Naphazoline (nitrate de)	Nafazolina nitrato
Naproxenum	(0731)	Naproxen	Naproxène	Naproxene
Naproxenum natricum	(1702)	Naproxen sodium	Naproxène sodique	Naproxene sodico
Natrii (S)-lactatis solutio	(2033)	Sodium (S)-lactate solution	Sodium ((S)-lactate de), solution de	Sodio (S)-lattato soluzione
Natrii acetate trihydricus	(0411)	Sodium acetate trihydrate	Sodium (acétate de) trihydraté	Sodio acetato tridrato
Natrii alendronas	(1564)	Sodium alendronate	Sodium (alendronate de)	Sodio alendronato
Natrii alginas	(0625)	Sodium alginate	Sodium (alginate de)	Sodio alginato
Natrii amidotrizoas	(1150)	Sodium amidotrizoate	Sodium (amidotrizoate de)	Sodio amidotrizoato
Natrii aminosalicylas dihydricus	(1993)	Sodium aminosalicylate dihydrate	Sodium (aminosalicylate de) dihydraté	Sodio aminosalicilato diidrato (sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)
Natrii ascorbas	(1791)	Sodium ascorbate	Ascorbate sodique	Sodio ascorbato
Natrii aurothiomalas	(1994)	Sodium aurothiomalate	Sodium (aurothiomalate de)	Sodio aurotiomolato
Natrii benzoas	(0123)	Sodium benzoate	Sodium (benzoate de)	Sodio benzoato
Natrii bromidum	(0190)	Sodium bromide	Sodium (bromure de)	Sodio bromuro
Natrii calcii edetas	(0231)	Sodium calcium edetate	Sodium (calcium édétate de)	Sodio calcio edetato
Natrii caprylas	(1471)	Sodium caprylate	Sodium (caprylate de)	Sodio caprilato
Natrii carbonas anhydricus	(0773)	Sodium carbonate, anhydrous	Sodium (carbonate de) anhydre	Sodio carbonato anidro
Natrii carbonas deca- hydricus	(0191)	Sodium carbonate decahydrate	Sodium (carbonate de) décahydraté	Sodio carbonato decaidrato
Natrii carbonas mono- hydricus	(0192)	Sodium carbonate monohydrate	Sodium (carbonate de) monohydraté	Sodio carbonato monoidrato
Natrii cetylo- et stearylosulfas	(0847)	Sodium cetostearyl sulphate	Cétostéaryle (sulfate de) sodique	Sodio cetostearilsolfato
Natrii chloridum	(0193)	Sodium chloride	Sodium (chlorure de)	Sodio cloruro
Natrii citras	(0412)	Sodium citrate	Sodium (citrate de)	Sodio citrato
Natrii cromoglicas	(0562)	Sodium cromoglicate	Sodium (cromoglicate de)	Sodio cromoglicato

Natrii cyclamas	(0774)	Sodium cyclamate	Sodium (cyclamate de)	Sodio ciclamato
Natrii dihydrogeno-phosphas dihydricus	(0194)	Sodium dihydrogen phosphate dihydrate	Phosphate monosodique dihydraté	Sodio fosfato monobasico diidrato
Natrii docusas	(1418)	Docusate sodium	Docusate sodique	Docusato sodico
Natrii fluoridum	(0514)	Sodium fluoride	Sodium (fluorure de)	Sodio fluoruro
Natrii fusidas	(0848)	Sodium fusidate	Sodium (fusidate de)	Sodio fusidato
Natrii glycerophosphas hydricus	(1995)	Sodium glycerophosphate, hydrated	Sodium (glycèrophosphate de) hydraté	Sodio glicerofosfato idrato
Natrii hyaluronas	(1472)	Sodium hyaluronate	Sodium (hyaluronate de)	Sodio ialuronato
Natrii hydrogenocarbonas	(0195)	Sodium hydrogen carbonate	Sodium (bicarbonate de)	Sodio bicarbonato
Natrii hydroxidum	(0677)	Sodium hydroxide	Sodium (hydroxyde de)	Sodio idrossido
Natrii iodidum	(0196)	Sodium iodide	Sodium (iodure de)	Sodio ioduro
Natrii lactatis solutio	(1151)	Sodium lactate solution	Sodium (lactate de), solution de	Sodio lattato soluzione
Natrii laurilsulfas	(0098)	Sodium laurilsulfate	Sodium (laurilsulfate de)	Sodio laurilsolfato
Natrii metabisulfis	(0849)	Sodium metabisulphite	Sodium (métabisulfite de)	Sodio metabisolfito
Natrii molybdas dihydricus	(1565)	Sodium molybdate dihydrate	Sodium (molybdate de) dihydraté	Sodio molibdato diidrato
Natrii nitris	(1996)	Sodium nitrite	Sodium (nitrite de)	Sodio nitrito
Natrii nitroprussias	(0565)	Sodium nitroprusside	Sodium (nitroprussiate de)	Sodio nitroprussiato
Natrii perboras hydricus	(1997)	Sodium perborate, hydrated	Sodium (perborate de) hydraté	Sodio perborato idrato
Natrii picosulfas	(1031)	Sodium picosulfate	Sodium (picosulfate de)	Sodio picosolfato
Natrii polystyrenesulfonas	(1909)	Sodium polystyrene sulphonate	Sodium (polystyrène sulfonate de)	Sodio polistirene sulfonato
Natrii propionas	(2041)	Sodium propionate	Sodium (propionate de)	Sodio propionato
Natrii salicylas	(0413)	Sodium salicylate	Sodium (salicylate de)	Sodio salicilato
Natrii selenis pentahydricus	(1677)	Sodium selenite pentahydrate	Sodium (sélénite de) pentahydraté	Sodio selenito pentaidrato
Natrii stearas	(2058)	Sodium stearate	Sodium (stéarate de)	Sodio stearato (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Natrii stearyl is fumaras	(1567)	Sodium stearyl fumarate	Stéaryle (fumarate de) sodique	Sodio stearyl fumarato
Natrii sulfas anhydricus	(0099)	Sodium sulphate, anhydrous	Sodium (sulfate de) anhydre	Sodio solfato anidro
Natrii sulfas decahydricus	(0100)	Sodium sulphate decahydrate	Sodium (sulfate de) décahydraté	Sodio solfato decaidrato
Natrii sulfis anhydricus	(0775)	Sodium sulphite, anhydrous	Sodium (sulfite de) anhydre	Sodio solfito anidro
Natrii sulfis heptahydricus	(0776)	Sodium sulphite heptahydrate	Sodium (sulfite de) heptahydraté	Sodio solfito eptaidrato
Natrii thiosulfas	(0414)	Sodium thiosulphate	Sodium (thiosulfate de)	Sodio tiosolfato
Natrii valproas	(0678)	Sodium valproate	Sodium (valproate de)	Sodio valproato
Neohesperidin-dihydrochalconum	(1547)	Neohesperidin-dihydrochalcone	Néohespéridine-dihydrochalcone	Neoesperidina diidrochalcone
Neomycini sulfas	(0197)	Neomycin sulphate	Néomycine (sulfate de)	Neomicina solfato
Neostigmini bromidum	(0046)	Neostigmine bromide	Néostigmine (bromure de)	Neostigmina bromuro
Neostigmini metilsulfas	(0626)	Neostigmine metilsulfate	Néostigmine (métilsulfate de)	Neostigmina metilsolfato
Neroli aetheroleum	(1175)	Neroli oil	Néroli (huile essentielle de)	Neroli essenza
Netilmicini sulfas	(1351)	Netilmicin sulphate	Nétilmicine (sulfate de)	Netilmicina solfato
Nevirapinum anhydricum	(2255)	Nevirapine, anhydrous	Névrapine anhydre	Nevirapina anidra
Nicergolinum	(1998)	Nicergoline	Nicergoline	Nicergolina
Nicethamidum	(0233)	Nikethamide	Nicéthamide	Nicetamide
Niclosamidum anhydricum	(0679)	Niclosamide, anhydrous	Niclosamide anhydre	Niclosamide anidro
Niclosamidum monohydricum	(0680)	Niclosamide monohydrate	Niclosamide monohydraté	Niclosamide monoidrato
Nicotinamidum	(0047)	Nicotinamide	Nicotinamide	Nicotinamide
Nicotini resinas	(1792)	Nicotine resinate	Nicotine (resinate de)	Nicotina resinato (Complesso nicotina-resina cationica)
Nicotinum	(1452)	Nicotine	Nicotine	Nicotina

Nifedipinum	(0627)	Nifedipine	Nifédipine	Nifedipina
Nifuroxazidum	(1999)	Nifuroxazide	Nifuroxazide	Nifuroxazide
Nimesulidum	(1548)	Nimesulide	Nimésulide	Nimesulide
Nimodipinum	(1245)	Nimodipine	Nimodipine	Nimodipina
Nitrazepamum	(0415)	Nitrazepam	Nitrazépam	Nitrazepam
Nitrendipinum	(1246)	Nitrendipine	Nitrendipine	Nitrendipina
Nitrofuralem	(1135)	Nitrofuralem	Nitrofuralem	Nitrofuralem
Nitrofurantoinum	(0101)	Nitrofurantoin	Nitrofurantoin	Nitrofurantoina
Nitrogenii oxidum	(1550)	Nitric oxide	Azote (monoxyde d')	Azoto monossido
Nitrogenium	(1247)	Nitrogen	Azote	Azoto
Nitrogenium oxygenio depletum	(1685)	Nitrogen, low-oxygen	Azote pauvre en oxygène	Azoto a basso contenuto di ossigeno
Nizatidinum	(1453)	Nizatidine	Nizatidine	Nizatidina
Nomegestroli acetatas	(1551)	Nomegestrol acetate	Nomégestrol (acétate de)	Nomegestrol acetato
Nonoxinolum 9	(1454)	Nonoxinol 9	Nonoxinol 9	Nonoxinolo 9
Noradrenalini hydrochloridum	(0732)	Noradrenaline hydrochloride	Noradrénaline (chlorhydrate de)	Noradrenalina cloridrato
Noradrenalini tartaras	(0285)	Noradrenaline tartrate	Noradrénaline (tartrate de)	Noradrenalina tartrato
Norethisteroni acetatas	(0850)	Norethisterone acetate	Noréthistérone (acétate de)	Noretisterone acetato
Norethisteronum	(0234)	Norethisterone	Noréthistérone	Noretisterone
Norfloxacinum	(1248)	Norfloxacin	Norfloxacine	Norfloxacina
Norgestimatum	(1732)	Norgestimate	Norgestimato	Norgestimato
Norgestrelum	(0940)	Norgestrel	Norgestrel	Norgestrel
Nortriptylini hydrochloridum	(0941)	Nortriptyline hydrochloride	Nortriptyline (chlorhydrate de)	Nortriptilina cloridrato
Noscapini hydrochloridum	(0515)	Noscapine hydrochloride	Noscapine (chlorhydrate de)	Noscapina cloridrato
Noscapinum	(0516)	Noscapine	Noscapine	Noscapina
Notoginseng radix	(2383)	Notoginseng root	Notoginseng (racine de)	Ginseng radice
Nystatinum	(0517)	Nystatin	Nystatine	Nistatina
Octoxinolum 10	(1553)	Octoxinol 10	Octoxinol 10	Ottoxinolo 10
Octyldodecanolum	(1136)	Octyldodecanol	Octyldodécanol	Ottildodecanolo
Octylis gallas	(2057)	Octyl gallate	Octyle (gallate de)	Ottile gallato
Oenotherae oleum raffinatum	(2104)	Evening primrose oil, refined	Onagre (huile d') raffinée	Enotera olio raffinato
Ofloxacinum	(1455)	Ofloxacin	Ofloxacine	Ofloxacina
Oleae folium	(1878)	Olive leaf	Olivier (feuille d')	Olivo foglia
Olibanum indicum	(2310)	Indian frankincense	Encens indien	Incenso indiano
Olivae oleum raffinatum	(1456)	Olive oil, refined	Olive (huile d') raffinée	Olio di oliva raffinato
Olivae oleum virginale	(0518)	Olive oil, virgin	Olive (huile d') vierge	Olio di oliva vergine
Olsalazinum natricum	(1457)	Olsalazine sodium	Olsalazine sodique	Olsalazina sodica
Omega-3 acidorum esteri ethylici 60	(2063)	Omega-3-acid ethyl esters 60	Oméga-3 (esters éthyliques 60 d'acides)	Acidi omega-3 esteri etilici 60
Omega-3 acidorum esteri ethylici 90	(1250)	Omega-3-acid ethyl esters 90	Oméga-3 (esters éthyliques 90 d'acides)	Acidi omega-3 esteri etilici 90
Omega-3 acidorum triglycerida	(1352)	Omega-3-acid triglycerides	Oméga-3 (triglycérides d'acides)	Acidi omega-3 trigliceridi
Omeprazolum	(0942)	Omeprazole	Oméprazole	Omeprazolo
Omeprazolum natricum	(1032)	Omeprazole sodium	Oméprazole sodique	Omeprazolo sodico
Ondansetroni hydrochloridum dihydricum	(2016)	Ondansetron hydrochloride dihydrate	Ondansétron (chlorhydrate d') dihydraté	Ondansetrona cloridrato diidrato
Ononidis radix	(1879)	Restharrow root	Bugrane (racine de)	Ononide radice
Opii extractum siccum normatum	(1839)	Opium dry extract, standardised	Opium (extrait sec titré d')	Oppio estratto secco titolato
Opii pulvis normatus	(1840)	Opium, prepared	Opium (poudre titrée)	Oppio polvere titolata (sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)
Opii tinctura normata	(1841)	Opium tincture, standardised	Opium (teinture titrée d')	Oppio tintura titolata
Opium crudum	(0777)	Opium, raw	Opium brut	Oppio
Orciprenalini sulfas	(1033)	Orciprenaline sulphate	Orciprénaline (sulfate d')	Orciprenalina solfato
Origani herba	(1880)	Oregano	Origan	Origano
Orphenadrini citras	(1759)	Orphenadrine citrate	Orphénadrine (citrate d')	Orfenadrina citrato

Orphenadrini hydrochloridum	(1760)	Orphenadrine hydrochloride	Orphénadrine (chlorhydrate d')	Orfenadrina cloridrato
Orthosiphonis folium	(1229)	Java tea	Orthosiphon	Thè di Giava (Ortosifon)
Oryzae amyllum	(0349)	Rice starch	Amidon de riz	Amido di riso
Ouabainum	(0048)	Ouabain	Ouabaïne	Ouabaina
Oxacillinum natricum monohydricum	(2260)	Oxacillin sodium monohydrate	Oxacilline sodique monohydratée	Oxacillina sodica monoidrata
Oxaliplatinum	(2017)	Oxaliplatin	Oxaliplatine	Oxaliplatino
Oxazepamum	(0778)	Oxazepam	Oxazépam	Oxazepam
Oxeladini hydrogenocitras	(1761)	Oxeladin hydrogen citrate	Oxéladine (hydrogénocitrate d')	Oxeladina idrogeno citrato
Oxfendazolum ad usum veterinarium	(1458)	Oxfendazole for veterinary use	Oxfendazole pour usage vétérinaire	Oxfendazolo per uso veterinario
Oxitropii bromidum	(2170)	Oxitropium bromide	Oxitropium (bromure d')	Oxitropio bromuro
Oxprenololi hydrochloridum	(0628)	Oxprenolol hydrochloride	Oxprénolol (chlorhydrate d')	Oxprenololo cloridrato
Oxybuprocaini hydrochloridum	(1251)	Oxybuprocaine hydrochloride	Oxybuprocaïne (chlorhydrate d')	Oxibuprocaina cloridrato
Oxybutynini hydrochloridum	(1354)	Oxybutynin hydrochloride	Oxybutynine (chlorhydrate d')	Oxibutinina cloridrato
Oxycodoni hydrochloridum	(1793)	Oxycodone hydrochloride	Oxycodone (chlorhydrate d')	Ossicodone cloridrato
Oxygenium	(0417)	Oxygen	Oxygène	Ossigeno
Oxymetazolini hydrochloridum	(0943)	Oxymetazoline hydrochloride	Oxymétazoline (chlorhydrate d')	Oximetazolina cloridrato
Oxytetracyclini hydrochloridum	(0198)	Oxytetracycline hydrochloride	Oxytétracycline (chlorhydrate d')	Oxitetraciclina cloridrato
Oxytetracyclinum dihydricum	(0199)	Oxytetracycline dihydrate	Oxytétracycline dihydraté	Oxitetraciclina diidrato
Oxytocini solutio concentrata	(0779)	Oxytocin concentrated solution	Oxytocine (solution concentrée de)	Ossitocina soluzione concentrata
Oxytocinum	(0780)	Oxytocin	Oxytocine	Ossitocina
Paclitaxelum	(1794)	Paclitaxel	Paclitaxel	Paclitaxel
Pancreatis pulvis	(0350)	Pancreas powder	Pancréas (poudre de)	Pancreas polvere
Pancuronii bromidum	(0681)	Pancuronium bromide	Pancuronium (bromure de)	Pancuronio bromuro
Papaverini hydrochloridum	(0102)	Papaverine hydrochloride	Papavérine (chlorhydrate de)	Papaverina cloridrato
Papaveris rhoeados flos	(1881)	Red poppy petals	Coquelicot (pétales de)	Rosalaccio
Paracetamololum	(0049)	Paracetamol	Paracétamol	Paracetamolo
Paraffinum liquidum	(0239)	Paraffin, liquid	Paraffine liquide	Paraffina liquida
Paraffinum perliquidum	(0240)	Paraffin, light liquid	Paraffine liquide légère	Paraffina liquida leggera
Paraffinum solidum	(1034)	Paraffin, hard	Paraffine solide	Paraffina solida
Paraldehydum	(0351)	Paraldehyde	Paraldéhyde	Paraldeide
Parnaparinum natricum	(1252)	Parnaparin sodium	Parnaparine sodique	Parnaparina sodica
Paroxetini hydrochloridum anhydricum	(2283)	Paroxetine hydrochloride, de) anhydre	Paroxétine (chlorhydrate de) anhydre	Paroxetina cloridrato anidro
Paroxetini hydrochloridum hemihydricum	(2018)	Paroxetine hydrochloride hemihydrate	Paroxétine (chlorhydrate de) hémihydraté	Paroxetina cloridrato emidrato
Passiflorae herba	(1459)	Passion flower	Passiflore	Passiflora
Passiflorae herbae extractum siccum	(1882)	Passion flower dry extract	Passiflore (extract sec de)	Passiflora estratto secco
Pefloxacini mesilas dihydricus	(1460)	Pefloxacin mesilate dihydrate	Péfloxacine (mésilate de) dihydraté	Pefloxacina mesilato diidrato
Pelargonii radix	(2264)	Pelargonium root	Pélargonium (racine de)	Pelargonio radice
Penbutololi sulfas	(1461)	Penbutolol sulphate	Penbutolol (sulfate de)	Penbutololo solfato
Penicillaminum	(0566)	Penicillamine	Pénicillamine	Penicillamina
Pentaerythrylyl tetranitras dilutus	(1355)	Pentaerythrityl tetranitrate, diluted	Pentaérythryle (tétranitrate de) dilué	Pentaeritritile tetranitrato diluito
Pentamidini diisetionas	(1137)	Pentamidine diisetonate	Pentamidine (diisétionate de)	Pentamidina diisetionato

Pentazocini hydrochloridum	(1463)	Pentazocine hydrochloride	Pentazocine (chlorhydrate de)	Pentazocina cloridrato
Pentazocini lactas	(2000)	Pentazocine lactate	Pentazocine (lactate de)	Pentazocina lattato
Pentazocinum	(1462)	Pentazocine	Pentazocine	Pentazocina
Pentobarbitalum	(0200)	Pentobarbital	Pentobarbital	Pentobarbital
Pentobarbitalum natricum	(0419)	Pentobarbital sodium	Pentobarbital sodique	Pentobarbital sodico
Pentoxifyllinum	(0851)	Pentoxifylline	Pentoxifylline	Pentoxifyllina
Pentoxyverini hydrogencitras	(1621)	Pentoxyverine hydrogen citrate	Pentoxývérine (hydrogénocitrate de)	Pentoxiverina idrogeno citrato
Pepsini pulvis	(0682)	Pepsin powder	Pepsine (poudre de)	Pepsina polvere
Pergolidi mesilas	(1555)	Pergolide mesilate	Pergolide (mésilate de)	Pergolide mesilato
Perphenazinum	(0629)	Perphenazine	Perphénazine	Perfenazina
Pethidini hydrochloridum	(0420)	Pethidine hydrochloride	Péthidine (chlorhydrate de)	Petidina cloridrato
Phenazonum	(0421)	Phenazone	Phénazone	Fenazone
Pheniramini maleas	(1357)	Pheniramine maleate	Phéniramine (maléate de)	Feniramina maleato
Phenobarbitalum	(0201)	Phenobarbital	Phénobarbital	Fenobarbital
Phenobarbitalum natricum	(0630)	Phenobarbital sodium	Phénobarbital sodique	Fenobarbital sodico
Phenolphthaleinum	(1584)	Phenolphthalein	Phénolphthaléine	Fenolfaleina
Phenolsulfonphthaleinum	(0242)	Phenolsulfonphthalein	Phénolsulfoneptaléine	Fenolsulfonftaleina
Phenolum	(0631)	Phenol	Phénol	Fenolo
Phenoxyethanolum	(0781)	Phenoxyethanol	Phénoxyéthanol	Fenossietanolo
Phenoxyethylpenicillinum	(0148)	Phenoxyethylpenicillin	Phénoxyéthylpénicilline	Fenossimetilpenicillina
Phenoxyethylpenicillinum kalicum	(0149)	Phenoxyethylpenicillin potassium	Phénoxyéthylpénicilline potassique	Fenossimetilpenicillina potassica
Phentolamini mesilas	(1138)	Phentolamine mesilate	Phentolamine (mésilate de)	Fentolamina mesilato
Phenylalaninum	(0782)	Phenylalanine	Phénylalanine	Fenilalanina
Phenylbutazonum	(0422)	Phenylbutazone	Phénylbutazone	Fenilbutazone
Phenylephrini hydrochloridum	(0632)	Phenylephrine hydrochloride	Phényléphrine (chlorhydrate de)	Fenilefrina cloridrato
Phenylephrinum	(1035)	Phenylephrine	Phényléphrine	Fenilefrina
Phenylhydrargyri acetatas	(2042)	Phenylmercuric acetate	Phénylmercure (acetate de)	Mercurio fenilacetato
Phenylhydrargyri boras	(0103)	Phenylmercuric borate	Phénylmercure (borate de)	Mercurio fenilborato
Phenylhydrargyri nitras	(0783)	Phenylmercuric nitrate	Phénylmercure (nitrate de)	Mercurio fenilnitrate
Phenylpropanolamini hydrochloridum	(0683)	Phenylpropanolamine hydrochloride	Phénylpropanolamine (chlorhydrate de)	Fenilpropanolamina cloridrato
Phenytinum	(1253)	Phenytin	Phénytoïne	Fenitoina
Phenytinum natricum	(0521)	Phenytin sodium	Phénytoïne sodique	Fenitoina sodica
Phloroglucinol anhydricum	(2301)	Phloroglucinol, anhydrous	Phloroglucinol anhydre	Fluoroglucinolo anidro
Phloroglucinol dihydricum	(2302)	Phloroglucinol, dihydrate	Phloroglucinol dihydraté	Fluoroglucinolo diidrato
Pholcodinum	(0522)	Pholcodine	Pholcodine	Folcodina
Phthalylsulfathiazolum	(0352)	Phthalylsulfathiazole	Phtalylsulfathiazol	Ftalilsulfatiazolo
Physostigmini salicylas/Eserini salicylas	(0286)	Physostigmine salicylate	Ésérine (salicylate d')	Fisostigmina salicilato (Eserina salicilato)
Physostigmini sulfas/Eserini sulfas	(0684)	Physostigmine sulphate	Ésérine (sulfate d')	Fisostigmina solfato (Eserina solfato)
Phytomenadionum	(1036)	Phytomenadione	Phytoménadione	Fitomenadione
Phytosterolum	(1911)	Phytosterol	Phytostérol	Fitosterolo
Picotamidum monohydricum	(1358)	Picotamide monohydrate	Picotamide (monohydrate de)	Picotamide monoidrato
Pilocarpini hydrochloridum	(0633)	Pilocarpine hydrochloride	Pilocarpine (chlorhydrate de)	Pilocarpina cloridrato
Pilocarpini nitras	(0104)	Pilocarpine nitrate	Pilocarpine (nitrate de)	Pilocarpina nitrate
Pimobendanum	(2179)	Pimobendan	Pimobendane	Pimobendane
Pimozidum	(1254)	Pimozide	Pimozide	Pimozide
Pindololum	(0634)	Pindolol	Pindolol	Pindololo
Pini pumilionis aetheroleum	(2377)	Dwarf pine oil	Pin de montagne (huile essentielle de)	Pino mugo essenza
Pini silvestris aetheroleum	(1842)	Pine silvestris oil	Pin silvestre (huile essentielle de)	Pino silvestre essenza (sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)

Piperacillinum	(1169)	Piperacillin	Pipéracilline	Piperacillina
Piperacillinum natricum	(1168)	Piperacillin sodium	Pipéracilline sodique	Piperacillina sodica
Piperazini adipas	(0423)	Piperazine adipate	Pipérazine (adipate de)	Piperazina adipato
Piperazini citras	(0424)	Piperazine citrate	Pipérazine (citrate de)	Piperazina citrato
Piperazinum hydricum	(0425)	Piperazine hydrate	Pipérazine (hydrate de)	Piperazina idrato
Piracetamum	(1733)	Piracetam	Piracétam	Piracetam
Pirenzepini dihydrochloridum monohydricum	(2001)	Pirenzepine dihydrochloride monohydrate	Pirenzépine (dichlorhydrate de) monohydraté	Pirenzepina dicloridrato monoidrato
Piretanidum	(1556)	Piretanide	Pirétanide	Piretanide
Piroxicamum	(0944)	Piroxicam	Piroxicam	Piroxicam
Piscis oleum omega-3-acidis abundans	(1912)	Fish oil, rich in omega-3-acids	Oméga-3 (acides), huile de poisson riche en	Olio di pesce ad alto contenuto di acidi omega-3
Pivampicillinum	(0852)	Pivampicillin	Pivampicilline	Pivampicillina
Pivmecillinami hydrochloridum	(1359)	Pivmecillinam hydrochloride	Pivmecillinam (chlorhydrate de)	Pivmecillina cloridrato
Plantaginis lanceolatae folium	(1884)	Ribwort plantain	Plantain lancéolé	Piantaggine
Plantaginis ovatae semen	(1333)	Ispaghula seed	Ispaghul (graine d')	Ispaghula seme
Plantaginis ovatae seminis tegumentum	(1334)	Ispaghula husk	Ispaghul (graine d'), tégument de la	Ispaghula tegumento
Plasma humanum ad separationem	(0853)	Human plasma for fractionation	Plasma humain pour fractionnement	Plasma umano per frazionamento
Plasma humanum coag-mentatum conditumque ad exstinguendum virum	(1646)	Human plasma (pooled and treated for virus inactivation)	Plasma humain (mélange de) traité pour viroinactivation	Plasma umano (raccolto e trattato per inattivare i virus)
Poloxamera	(1464)	Poloxamers	Poloxamères	Polossameri
Poly(alcohol vinylicus)	(1961)	Poly(vinyl alcohol)	Poly(alcool vinylique)	Polivinile alcool
Poly(vinylis acetate)	(1962)	Poly(vinyl acetate)	Poly(acétate de vinyle)	Polivinile acetato
Poly(vinylis acetate) dispersio 30 per centum	(2152)	Poly(vinyl acetate) dispersion 30 per cent	Poly(acétate de vinyle) (dispersion de) à 30 pour cent	Polivinile acetato dispersione 30 per cento
Polyacrylatis dispersio 30 per centum	(0733)	Polyacrylate dispersion 30 per cent	Polyacrylate (dispersion de) à 30 pour cent	Poliacrilato dispersione 30 per cento
Polygalae radix	(0202)	Senega root	Polygala (racine de)	Poligala radice
Polygoni avicularis herba	(1885)	Knotgrass	Renouée des oiseaux	Corregiola
Polymyxini B sulfas	(0203)	Polymyxin B sulphate	Polymyxine B (sulfate de)	Polimixina B solfato
Polysorbatum 20	(0426)	Polysorbate 20	Polysorbate 20	Polisorbato 20
Polysorbatum 40	(1914)	Polysorbate 40	Polysorbate 40	Polisorbato 40
Polysorbatum 60	(0427)	Polysorbate 60	Polysorbate 60	Polisorbato 60
Polysorbatum 80	(0428)	Polysorbate 80	Polysorbate 80	Polisorbato 80
Povidonum	(0685)	Povidone	Povidone	Povidone
Povidonum iodatum	(1142)	Povidone, iodinated	Povidone iodée	Povidone-iodio
Praeparationes insulini iniectionabiles	(0854)	Insulin preparations, injectable	Insuline (préparations injectables d')	Insulina preparazioni iniettabili
Pravastatinum natricum	(2059)	Pravastatin sodium	Pravastatine sodique	Pravastatina sodica
Prazepamum	(1466)	Prazepam	Prazépam	Prazepam
Praziquantelum	(0855)	Praziquantel	Praziquantel	Praziquantel
Prazosini hydrochloridum	(0856)	Prazosin hydrochloride	Prazosine (chlorhydrate de)	Prazosina cloridrato
Prednicarbatum	(1467)	Prednicarbate	Prednicarbate	Prednicarbato
Prednisoloni acetate	(0734)	Prednisolone acetate	Prednisolone (acétate de)	Prednisolone acetato
Prednisoloni natrii phosphas	(0735)	Prednisolone sodium phosphate	Prednisolone (phosphate sodique de)	Prednisolone sodico fosfato
Prednisoloni pivalas	(0736)	Prednisolone pivalate	Prednisolone (pivalate de)	Prednisolone pivalato
Prednisolonum	(0353)	Prednisolone	Prednisolone	Prednisolone
Prednisonum	(0354)	Prednisone	Prednisone	Prednisone
Prilocaini hydrochloridum	(1363)	Prilocaine hydrochloride	Prilocaine (chlorhydrate de)	Prilocaina cloridrato
Prilocainum	(1362)	Prilocaine	Prilocaine	Prilocaina
Primaquini diphosphas	(0635)	Primaquine diphosphate	Primaquine (diphosphate de)	Primachina difosfato
Primidonum	(0584)	Primidone	Primidone	Primidone
Primulae radix	(1364)	Primula root	Primevère (racine de)	Primula radice (Primavera, Primula odorosa)

Probenecidum	(0243)	Probenecid	Probénécide	Probenecid
Procainamidi hydrochloridum	(0567)	Procainamide hydrochloride	Procaïnamide (chlorhydrate de)	Procainamide cloridrato
Procaini hydrochloridum	(0050)	Procaine hydrochloride	Procaïne (chlorhydrate de)	Procaina cloridrato
Prochlorperazini maleas	(0244)	Prochlorperazine maleate	Prochlorpérazine (maléate de)	Proclorperazina maleato
Progesteronum	(0429)	Progesterone	Progestérone	Progesterone
Proguanili hydrochloridum	(2002)	Proguanil hydrochloride	Proguanil (chlorhydrate de)	Proguanile cloridrato <i>(sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)</i>
Prolinum	(0785)	Proline	Proline	Prolina
Promazini hydrochloridum	(1365)	Promazine hydrochloride	Promazine (chlorhydrate de)	Promazina cloridrato
Promethazini hydrochloridum	(0524)	Promethazine hydrochloride	Prométhazine (chlorhydrate de)	Prometazina cloridrato
Propacetamoli hydrochloridum	(1366)	Propacetamol hydrochloride	Propacétamol (chlorhydrate de)	Propacetamol cloridrato
Propafenoni hydrochloridum	(2103)	Propafenone hydrochloride	Propafénone (chlorhydrate de)	Propafenone cloridrato
Propanolum	(2036)	Propanol	Propanol	Propanolo
Propanthelini bromidum	(0857)	Propantheline bromide	Propanthéline (bromure de)	Propantelina bromuro
Propofolum	(1558)	Propofol	Propofol	Propofol
Propranololi hydrochloridum	(0568)	Propranolol hydrochloride	Propranolol (chlorhydrate de)	Propranololo cloridrato
Propylenglycoli dicaprylocapras	(2122)	Propylene glycol dicaprylocaprate	Propylèneglycol (dicaprylocaprate de)	Glicole propilenico dicaprilocaprato
Propylenglycoli dilauras	(2087)	Propylene glycol dilaurate	Propylèneglycol (dilaurate de)	Glicole propilenico dilaurato
Propylenglycoli monolauras	(1915)	Propylene glycol monolaurate	Propylèneglycol (monolaurate de)	Glicole propilenico monolaurato
Propylenglycoli monopalmistostearas	(1469)	Propylene glycol monopalmistostearate	Propylèneglycol (monopalmistostéarate de)	Glicole propilenico monopalmistostearato
Propylenglycolum	(0430)	Propylene glycol	Propylèneglycol	Glicole propilenico
Propylis gallas	(1039)	Propyl gallate	Propyle (gallate de)	Propile gallato
Propylis parahydroxybenzoas	(0431)	Propyl parahydroxybenzoate	Propyle (parahydroxybenzoate de)	Propile paraidrossibenzoato
Propylis parahydroxybenzoas natricus	(1263)	Sodium propyl parahydroxybenzoate	Propyle (parahydroxybenzoate de) sodique	Propile paraidrossibenzoato sodico
Propylthiouracilum	(0525)	Propylthiouracil	Propylthiouracile	Propiltiouracile
Propyphenazonum	(0636)	Propyphenazone	Propyphénazone	Propifenazone
Protamini hydrochloridum	(0686)	Protamine hydrochloride	Protamine (chlorhydrate de)	Protamina cloridrato
Protamini sulfas	(0569)	Protamine sulphate	Protamine (sulfate de)	Protamina solfato
Prothrombinum multiplex humanum	(0554)	Human prothrombin complex	Complexe prothrombique humain	Protrombina umana complesso
Protirelinum	(1144)	Protirelin	Protiréline	Protirelina
Proxiphyllinum	(0526)	Proxiphylline	Proxiphylline	Proxifillina
Pruni africanæ cortex	(1886)	Pygeum africanum bark	Prunier d'Afrique (écorce de)	Pruno africano corteccia
Pseudoephedrini hydrochloridum	(1367)	Pseudoephedrine hydrochloride	Pseudoéphédrine (chlorhydrate de)	Pseudoefedrina cloridrato
Psyllii semen	(0858)	Psyllium seed	Psyllium (graine de)	Psillio seme
Pyranteli embonas	(1680)	Pyrantel embonate	Pyrantel (embonate de)	Pirantele embonato
Pyrazinamidum	(0859)	Pyrazinamide	Pyrazinamide	Pirazinamide
Pyridostigmini bromidum	(1255)	Pyridostigmine bromide	Pyridostigmine (bromure de)	Piridostigmina bromuro
Pyridoxini hydrochloridum	(0245)	Pyridoxine hydrochloride	Pyridoxine (chlorhydrate de)	Piridoxina cloridrato
Pyrimethaminum	(0288)	Pyrimethamine	Pyriméthamine	Pirimetamina
Pyrrolidum	(2180)	Pyrrolidone	Pyrrolidone	Pirrolidone
Quercus cortex	(1887)	Oak bark	Chêne (écorce de)	Quercia corteccia
Ramiprilum	(1368)	Ramipril	Ramipril	Ramipril
Ranitidini hydrochloridum	(0946)	Ranitidine hydrochloride	Ranitidine (chlorhydrate de)	Ranitidina cloridrato
Rapae oleum raffinatum	(1369)	Rapeseed oil, refined	Colza (huile de) raffinée	Olio di colza raffinato

Ratanhia radix	(0289)	Rhatany root	Ratanhia (racine de)	Ratania radice
Ratanhia tinctura	(1888)	Rhatany tincture	Ratanhia (teinture de)	Ratania tintura (sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)
Repaglinidum	(2135)	Repaglinide	Répaglinide	Repaglinide
Reserpinum	(0528)	Reserpine	Réserpine	Reserpina
Resorcinolum	(0290)	Resorcinol	Résorcinol	Resorcinolo
Rhamni purshianae cortex	(0105)	Cascara	Cascara	Cascara
Rhamni purshianae extractum siccum normatum	(1844)	Cascara dried extract, standardised	Cascara (extrait sec titré de)	Cascara estratto secco titolato (sostituisce le monografie nazionali della FU XI ed. Cascara estratto acquoso secco e Cascara estratto secco)
Rhei radix	(0291)	Rhubarb	Rhubarbe	Rabarbaro
Ribavirinum	(2109)	Ribavirin	Ribavirine	Ribavirina
Riboflavini natrii phosphas	(0786)	Riboflavin sodium phosphate	Riboflavine (phosphate sodique de)	Riboflavina sodio fosfato
Riboflavinum	(0292)	Riboflavin	Riboflavine	Riboflavina
Ricini oleum hydrogenatum	(1497)	Castor oil, hydrogenated	Ricin (huile de) hydrogénée	Olio di ricino idrogenato
Ricini oleum raffinatum	(2367)	Castor oil, refined	Ricin (huile de) raffinée	Olio di ricino raffinato
Ricini oleum virginale	(0051)	Castor oil, virgin	Ricin (huile de) vierge	Olio di ricino vergine
Rifabutinum	(1657)	Rifabutin	Rifabutine	Rifabutina
Rifampicinum	(0052)	Rifampicin	Rifampicine	Rifampicina
Rifamycinum natricum	(0432)	Rifamycin sodium	Rifamycine sodique	Rifamicina sodica
Rilmenedini dihydrogenophosphas	(2020)	Rilmenedine dihydrogen phosphate	Rilménidine (dihydrogénophosphate de)	Rilmenedina diidrogeno fosfato
Risperidonum	(1559)	Risperidone	Rispéridone	Risperidone
Ritonavirum	(2136)	Ritonavir	Ritonavir	Ritonavir
Rocuroni bromidum	(1764)	Rocuronium bromide	Rocuronium (bromure de)	Rocuronio bromuro
Ropivacaini hydrochloridum monohydricum	(2335)	Ropivacaine hydrochloride monohydrate	Ropivacaïne (chlorhydrate de) monohydraté	Ropivacaina cloridrato monoidrato
Rosae pseudo-fructus	(1510)	Dog rose	Cynorrhodon	Rosa canina
Rosmarini aetheroleum	(1846)	Rosemary oil	Romarin (huile essentielle de)	Rosmarino essenza
Rosmarini folium	(1560)	Rosemary leaf	Romarin	Rosmarino foglia
Roxithromycinum	(1146)	Roxithromycin	Roxithromycine	Roxitromicina
Rusci rhizoma	(1847)	Butcher's broom	Petit houx	Rusco rizoma (Pungitopo)
Rutosidum trihydricum	(1795)	Rutoside trihydrate	Rutoside trihydraté	Rutoside triidrato
Sabal serrulatae fructus	(1848)	Saw palmetto fruit	Sabal (fruit de)	Sabal frutto (Serenoa repens)
Sacchari sphaerae	(1570)	Sugar spheres	Sphères de sucre	Zucchero sfere
Saccharinum	(0947)	Saccharin	Saccharine	Saccarina
Saccharinum natricum	(0787)	Saccharin sodium	Saccharine sodique	Saccarina sodica
Saccharum	(0204)	Sucrose	Saccharose	Saccarosio
Salbutamoli sulfas	(0687)	Salbutamol sulphate	Salbutamol (sulfate de)	Salbutamolo solfato
Salbutamolum	(0529)	Salbutamol	Salbutamol	Salbutamolo
Salicis cortex	(1583)	Willow bark	Saule (écorce de)	Salice corteccia
Salmeteroli xinafoas	(1765)	Salmeterol xinafoate	Salmétérol (xinafoate de)	Salmeterolo xinafoato
Salmonis domestici oleum	(1910)	Salmon oil, farmed	Saumon d'élevage (huile de)	Olio di salmone d'allevamento
Salviae officinalis folium	(1370)	Sage leaf (salvia officinalis)	Sauge officinale (feuille de)	Salvia officinale foglia
Salviae sclareae aetheroleum	(1850)	Clary sage oil	Sauge sclarée (huile essentielle de)	Salvia sclarea essenza
Salviae tinctura	(1889)	Sage tincture	Sauge (teinture de)	Salvia tintura
Salviae trilobae folium	(1561)	Sage leaf, three-lobed	Sauge trilobée (feuille de)	Salvia triloba foglia
Sambuci flos	(1217)	Elder flower	Sureau (fleur de)	Sambuco fiore
Scopolamini butylbromidum/ Hyoscini butylbromidum	(0737)	Hyoscine butylbromide	Scopolamine (butylbromure de)	Ioscina butilbromuro/ Scopolamina butilbromuro

Scopolamini hydrobromidum/ Hyoscini hydrobromidum	(0106)	Hyoscine hydrobromide	Scopolamine (bromhydrate de)	Ioscina bromidrato/ Scopolamina bromidrato
Scopolaminum/ Hyoscinum	(2167)	Hyoscine	Scopolamine	Ioscina/Scopolamina
Selegilini hydrochloridum	(1260)	Selegiline hydrochloride	Sélégiline (chlorhydrate de)	Selegilina cloridrato
Selenii disulfidum	(1147)	Selenium disulphide	Sélénium (disulfure de)	Selenio disolfuro
Sennae folii extractum siccum normatum	(1261)	Senna leaf dry extract, standardised	Séné (feuille de), extrait sec titré de	Senna foglia estratto secco titolato
Sennae folium	(0206)	Senna leaf	Séné (feuille de)	Senna foglia
Sennae fructus acutifoliae	(0207)	Senna pods, Alexandrian	Séné de Khartoum ou d'Alexandrie (fruit de)	Senna Alessandrina frutto
Sennae fructus angustifoliae	(0208)	Senna pods, Tinnevely	Séné de l'Inde ou de Tinnevely (fruit de)	Senna Tinnevely frutto
Serinum	(0788)	Serine	Sérine	Serina
Serpylli herba	(1891)	Wild thyme	Serpolet	Timo serpillo
Sertaconazoli nitras	(1148)	Sertaconazole nitrate	Sertaconazole (nitrate de)	Sertaconazolo nitrato
Serum bovinum	(2262)	Bovine serum	Sérum bovin	Siero bovino
Sesami oleum raffinatum	(0433)	Sesame oil, refined	Sésame (huile de) raffinée	Olio di sesamo raffinato
Silica ad usum dentalem	(1562)	Silica, dental type	Silice pour usage dentaire	Silice per uso dentale
Silica colloidalis anhydrica	(0434)	Silica, colloidal anhydrous	Silice colloïdale anhydre	Silice colloidale anidra
Silica colloidalis hydrica	(0738)	Silica, colloidal hydrated	Silice colloïdale hydratée	Silice colloidale idrata
Silica hydrophobica colloidalis	(2208)	Silica, hydrophobic colloidal anhydrous	Silice hydrophobe colloïdale anhydre	Silice idrofobica, colloidale, anidra
Silybi mariani extractum siccum raffinatum et normatum	(2071)	Milk thistle dry extract, refined and standardised	Chardon marie (extrait sec purifié et titré de)	Cardo mariano estratto secco raffinato e titolato
Silybi mariani fructus	(1860)	Milk-thistle fruit	Chardon marie	Cardo mariano frutto <i>(sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)</i>
Simeticonum	(1470)	Simeticone	Siméticone	Simeticone
Simvastatinum	(1563)	Simvastatin	Simvastatine	Simvastatina
Soiae oleum hydrogenatum	(1265)	Soya-bean oil, hydrogenated	Soja (huile de) hydrogénée	Olio di semi di soia idrogenato
Soiae oleum raffinatum	(1473)	Soya-bean oil, refined	Soja (huile de) raffinée	Olio di semi di soia raffinato
Solani amyllum	(0355)	Potato starch	Amidon de pomme de terre	Amido di patata
Solidaginis herba	(1892)	Goldenrod	Solidage	Verga d'oro
Solidaginis virgaureae herba	(1893)	Goldenrod, european	Solidage verge d'or	Verga d'oro europea
Solutiones ad conserva- tionem partium corporis	(1264)	Solutions for organ preservation	Solutions pour conservation d'organes	Soluzioni per la conservazione degli organi
Solutiones ad haemocolaturam haemodiacolaturamque	(0861)	Haemofiltration and for haemodiafiltration, solutions for	Solutions pour hémofiltration et pour hémodiafiltration	Soluzioni per emofiltrazione ed emodiafiltrazione
Solutiones ad haemodialysim	(0128)	Haemodialysis, solutions for	Solutions pour hémodialyse	Soluzioni per emodialisi
Solutiones ad peritonealem dialysim	(0862)	Peritoneal dialysis, solutions for	Solutions pour dialyse péritonéale	Soluzioni per dialisi peritoneale
Solutiones anticoagulantes et sanguinem humanum conservantes	(0209)	Anticoagulant and preservative solutions for human blood	Solutions anticoagulantes et de conservation du sang humain	Soluzioni anticoagulanti e conservanti per il sangue umano
Somatostatinum	(0949)	Somatostatin	Somatostatine	Somatostatina
Somatropini solutio concentrata	(0950)	Somatropin concentrated solution	Somatropine (solution concentrée de)	Somatropina soluzione concentrata
Somatropinum	(0951)	Somatropin	Somatropine	Somatropina
Somatropinum iniectionabile	(0952)	Somatropin for injection	Somatropine pour préparation injectable	Somatropina per preparazione iniettabile
Sorbitani lauras	(1040)	Sorbitan laurate	Sorbitan (laurate de)	Sorbitano laurato
Sorbitani oleas	(1041)	Sorbitan oleate	Sorbitan (oléate de)	Sorbitano oleato
Sorbitani palmitas	(1042)	Sorbitan palmitate	Sorbitan (palmitate de)	Sorbitano palmitato

Sorbitani sesquioleas	(1916)	Sorbitan sesquioleate	Sorbitan (sesquioleate de)	Sorbitano sesquioleato
Sorbitani stearas	(1043)	Sorbitan stearate	Sorbitan (stéarate de)	Sorbitano stearato
Sorbitani trioleas	(1044)	Sorbitan trioleate	Sorbitan (trioléate de)	Sorbitano trioleato
Sorbitolum	(0435)	Sorbitol	Sorbitol	Sorbitolo
Sorbitolum liquidum cristallisabile	(0436)	Sorbitol, liquid (crystallising)	Sorbitol liquide (cristallisable)	Sorbitolo liquido cristallizzabile
Sorbitolum liquidum non cristallisabile	(0437)	Sorbitol, liquid (non crystallising)	Sorbitol liquide (non cristallisable)	Sorbitolo liquido non cristallizzabile
Sorbitolum liquidum partim deshydricum	(2048)	Sorbitol, liquid, partially dehydrated	Sorbitol liquide partiellement déshydraté	Sorbitolo liquido parzialmente disidratato
Sotaloli hydrochloridum	(2004)	Sotalol hydrochloride	Sotalol (chlorhydrate de)	Sotalolo cloridrato
Spectinomycini dihydrochloridum pentahydricum	(1152)	Spectinomycin hydrochloride pentahydrate	Spectinomycine (chlorhydrate de) pentahydraté	Spectinomicina cloridrato pentaidrato
Spectinomycini sulfas tetrahydricus ad usum veterinarium	(1658)	Spectinomycin sulphate tetrahydrate for veterinary use	Spectinomycine (sulfate de) tétrahydraté pour usage vétérinaire	Spectinomicina solfato per uso veterinario
Spiramycinum	(0293)	Spiramycin	Spiramycine	Spiramicina
Spiraprilii hydrochloridum monohydricum	(1766)	Spirapril hydrochloride monohydrate	Spirapril (chlorhydrate de) monohydraté	Spirapril cloridrato monoidrato
Spironolactonum	(0688)	Spironolactone	Spironolactone	Spironolattone
Squalanum	(1630)	Squalane	Squalane	Squalano
Stannosi chloridum dihydricum	(1266)	Stannous chloride dihydrate	Chlorure stanneux dihydraté	Stannoso cloruro diidrato
Stanozololum	(1568)	Stanozolol	Stanozolol	Stanozololo
Stavudinum	(2130)	Stavudine	Stavudine	Stavudina
Stramonii folium	(0246)	Stramonium leaf	Stramoine (feuille de)	Stramonio foglia
Stramonii pulvis normatus	(0247)	Stramonium, prepared	Stramoine (poudre titrée de)	Stramonio polvere titolata
Streptokinasi solutio ad praeparationem	(0356)	Streptokinase bulk solution	Streptokinase (solution en vrac de)	Streptokinasi soluzione "in bulk"
Streptomycini sulfas	(0053)	Streptomycin sulphate	Streptomycine (sulfate de)	Streptomycina solfato
Succinylsulfathiazolum	(0357)	Succinylsulfathiazole	Succinylsulfathiazol	Succinilsulfatiazolo
Sufentanili citras	(1269)	Sufentanil citrate	Sufentanil (citrate de)	Sufentanil citrato
Sufentanilum	(1569)	Sufentanil	Sufentanil	Sufentanil
Sulbactamum natrium	(2209)	Sulbactam sodium	Sulbactam sodique	Sulbactam sodico
Sulfacetamidum natricum	(0107)	Sulfacetamide sodium	Sulfacétamide sodique	Sulfacetamide sodica
Sulfadiazinum	(0294)	Sulfadiazine	Sulfadiazine	Sulfadiazina
Sulfadimidinum	(0295)	Sulfadimidine	Sulfadimidine	Sulfadimidina
Sulfadoxinum	(0740)	Sulfadoxine	Sulfadoxine	Sulfadoxina
Sulfafurazolum	(0741)	Sulfafurazole	Sulfafurazol	Sulfafurazolo
Sulfaguanidinum	(1476)	Sulfaguanidine	Sulfaguanidine	Sulfaguanidina
Sulfamerazinum	(0358)	Sulfamerazine	Sulfamérazine	Sulfamerazina
Sulfamethizolum	(0637)	Sulfamethizole	Sulfaméthizol	Sulfametzolo
Sulfamethoxazolum	(0108)	Sulfamethoxazole	Sulfaméthoxazole	Sulfametoxazolo
Sulfamethoxyridazinum ad usum veterinarium	(0638)	Sulfamethoxyridazine for veterinary use	Sulfaméthoxyridazine pour usage vétérinaire	Sulfametoxipridazina per uso veterinario
Sulfanilamidum	(1571)	Sulfanilamide	Sulfanilamide	Sulfanilamide
Sulfasalazinum	(0863)	Sulfasalazine	Sulfasalazine	Sulfasalazina
Sulfathiazolum	(0742)	Sulfathiazole	Sulfathiazol	Sulfatiazolo
Sulfinpyrazonum	(0790)	Sulfinpyrazone	Sulfinpyrazone	Sulfinpirazone
Sulfisomidinum	(0639)	Sulfisomidine	Sulfisomidine	Sulfisomidina
Sulfur ad usum externum	(0953)	Sulphur for external use	Soufre pour usage externe	Zolfo per uso esterno
Sulindacum	(0864)	Sulindac	Sulindac	Sulindac
Sulpiridum	(1045)	Sulpiride	Sulpiride	Sulpiride
Sultamicillini tosilas dihydricus	(2212)	Sultamicillin tosilate dihydrate	Sultamicilline (tosilate de) dihydraté	Sultamicillina tosilito diidrato
Sultamicillinum	(2211)	Sultamicillin	Sultamicilline	Sultamicillina
Sumatriptani succinas	(1573)	Sumatriptan succinate	Sumatriptan (succinate de)	Sumatriptan succinato
Suxamethonii chloridum	(0248)	Suxamethonium chloride	Suxaméthonium (chlorure de)	Suxametonio cloruro
Suxibuzonum	(1574)	Suxibuzone	Suxibuzone	Suxibuzone

Talcum	(0438)	Talc	Talc	Talco
Tamoxifeni citras	(1046)	Tamoxifen citrate	Tamoxifène (citrate de)	Tamoxifene citrato
Tamsulosini hydrochloridum	(2131)	Tamsulosin hydrochloride	Tamsulosine (chlorhydrate de)	Tamsulosina cloridrato
Tanacetii parthenii herba	(1516)	Feverfew	Camomille (grande)	Tanaceto (Matricale)
Tanninum	(1477)	Tannic acid	Tannique (acide)	Acido tannico
Temazepamum	(0954)	Temazepam	Témazépam	Temazepam
Tenoxicamum	(1156)	Tenoxicam	Ténoxicam	Tenoxicam
Terazosini hydrochloridum dihydricum	(2021)	Terazosin hydrochloride dihydrate	Térazosine (chlorhydrate de) dihydraté	Terazosina cloridrato diidrato
Terbinafini hydrochloridum	(1734)	Terbinafine hydrochloride	Terbinafine (chlorhydrate de)	Terbinafina cloridrato
Terbutalini sulfas	(0690)	Terbutaline sulphate	Terbutaline (sulfate de)	Terbutalina solfato
Terconazolom	(1270)	Terconazole	Terconazole	Terconazolo
Terebinthini aetheroleum a <i>Pino pinastro</i>	(1627)	Turpentine oil, <i>Pinus pinaster</i> type	Térébenthine type <i>Pinus pinaster</i> (huile essentielle de)	Trementina essenza, tipo <i>Pinus pinaster</i>
Terfenadinum	(0955)	Terfenadine	Terfénadine	Terfenadina
Testosteroni decanoas	(1736)	Testosterone decanoate	Testostérone (décanoate de)	Testosterone decanoato
Testosteroni enantas	(1048)	Testosterone enantate	Testostérone (énantate de)	Testosterone enantato
Testosteroni isocaproas	(1737)	Testosterone isocaproate	Testostérone (isocaproate de)	Testosterone isocaproato
Testosteroni propionas	(0297)	Testosterone propionate	Testostérone (propionate de)	Testosterone propionato
Testosteronum	(1373)	Testosterone	Testostérone	Testosterone
Tetracaini hydrochloridum	(0057)	Tetracaine hydrochloride	Tétracaïne (chlorhydrate de)	Tetracaina cloridrato
Tetracosactidum	(0644)	Tetracosactide	Tétracosactide	Tetracosactide
Tetracyclini hydrochloridum	(0210)	Tetracycline hydrochloride	Tétracycline (chlorhydrate de)	Tetraciclina cloridrato
Tetracyclinum	(0211)	Tetracycline	Tétracycline	Tetraciclina
Tetrazepamum	(1738)	Tetrazepam	Tétrazépam	Tetrazepam
Tetryzolini hydrochloridum	(2101)	Tetryzoline hydrochloride	Tétryzoline (chlorhydrate de)	Tettrizolina cloridrato
Theobrominum	(0298)	Theobromine	Théobromine	Teobromina
Theophyllinum	(0299)	Theophylline	Théophylline	Teofillina
Theophyllinum et ethylenediaminum	(0300)	Theophylline-ethylenediamine	Théophylline-éthylènediamine	Teofillina-etilendiammina
Theophyllinum et ethylenediaminum hydricum	(0301)	Theophylline-ethylenediamine hydrate	Théophylline-éthylènediamine hydratée	Teofillina-etilendiammina idrata
Theophyllinum monohydricum	(0302)	Theophylline monohydrate	Théophylline monohydratée	Teofillina monoidrata
Thiamazolom	(1706)	Thiamazole	Thiamazol	Tiamazolo (<i>sostituisce la monografia nazionale Metimazolo della F.U.XI ed.</i>)
Thiaini hydrochloridum	(0303)	Thiamine hydrochloride	Thiamine (chlorhydrate de)	Tiamina cloridrato
Thiaini nitras	(0531)	Thiamine nitrate	Thiamine (nitrate de)	Tiamina nitrato
Thiamphenicolum	(0109)	Thiamphenicol	Thiamphénicol	Tiamfenicolo
Thiomersalum	(1625)	Thiomersal	Thiomersal	Tiomersal
Thiopentalum natricum et natrii carbonas	(0212)	Thiopental sodium and sodium carbonate	Thiopental et carbonate sodiques	Tiopental sodico e sodio carbonato
Thioridazini hydrochloridum	(0586)	Thioridazine hydrochloride	Thioridazine (chlorhydrate de)	Tioridazina cloridrato
Thioridazinum	(2005)	Thioridazine	Thioridazine	Tioridazina
Threoninum	(1049)	Threonine	Thréonine	Treonina
Thymi aetheroleum	(1374)	Thyme oil	Thym (huile essentielle de)	Timo essenza
Thymi herba	(0865)	Thyme	Thym	Timo
Thymolum	(0791)	Thymol	Thymol	Timolo
Tiabendazolom	(0866)	Tiabendazole	Tiabendazole	Tiabendazolo
Tiamulini hydrogenofumaras ad usum veterinarium	(1659)	Tiamulin hydrogen fumarate for veterinary use	Tiamuline (hydrogénofumarate de) pour usage vétérinaire	Tiamulin idrogenofumarato per uso veterinario
Tiamulinum ad usum veterinarium	(1660)	Tiamulin for veterinary use	Tiamuline pour usage vétérinaire	Tiamulin per uso veterinario

Tianeptinum natricum	(2022)	Tianeptine sodium	Tianeptine sodique	Tianeptina sodica
Tiapridi hydrochloridum	(1575)	Tiapride hydrochloride	Tiapride (chlorhydrate de)	Tiapride cloridrato
Tibololum	(1739)	Tibolone	Tibolone	Tibolone
Ticarcillinum natricum	(0956)	Ticarcillin sodium	Ticarcilline sodique	Ticarcillina sodica
Ticlopidini hydrochloridum	(1050)	Ticlopidine hydrochloride	Ticlopidine (chlorhydrate de)	Ticlopidina cloridrato
Tiliae flos	(0957)	Lime flower	Tilleul (fleur de)	Tiglio fiore
Tilidini hydrochloridum hemihydricum	(1767)	Tilidine hydrochloride hemihydrate	Tilidine (chlorhydrate de) hémihydraté	Tilidina cloridrato emiidrato
Timololi maleas	(0572)	Timolol maleate	Timolol (maléate de)	Timololo maleato
Tinidazolum	(1051)	Tinidazole	Tinidazole	Tinidazolo
Tinzaparinum natricum	(1271)	Tinzaparin sodium	Tinzaparine sodique	Tinzaparina sodica
Tioconazolum	(2074)	Tioconazole	Tioconazole	Tioconazolo
Titanii dioxidum	(0150)	Titanium dioxide	Titane (dioxyde de)	Titanio diossido
Tobramycinum	(0645)	Tobramycin	Tobramycine	Tobramicina
α -Tocopheroli acetatis pulvis	(0691)	α -Tocopherol acetate concentrate (powder form)	α -Tocophérol (concentrat d'acétate d'), forme pulvérulente	α -Tocoferolo acetato polvere
DL- α -Tocopherylis hydrogenosuccinas	(1258)	DL- α -Tocopheryl hydrogen succinate	DL- α -Tocophéryle (hydrogénosuccinate de)	DL- α -Tocoferile idrogeno succinato
int- <i>rac</i> - α -Tocopherylis acetatas	(0439)	all- <i>rac</i> - α -Tocopheryl acetate	tout- <i>rac</i> - α -Tocophéryle (acétate de)	tutto- <i>rac</i> - α -Tocoferile acetato
int- <i>rac</i> - α -Tocopherolum	(0692)	all- <i>rac</i> - α -Tocopherol	tout- <i>rac</i> - α -Tocophérol	tutto- <i>rac</i> - α -Tocoferolo
RRR- α -Tocopherylis acetatas	(1257)	RRR- α -Tocopheryl acetate	RRR- α -Tocophéryle (acétate de)	RRR- α -Tocoferile acetato
RRR- α -Tocopherylis hydrogenosuccinas	(1259)	RRR- α -Tocopheryl hydrogen succinate	RRR- α -Tocophéryle (hydrogénosuccinate de)	RRR- α -Tocoferile idrogeno succinato
RRR- α -Tocopherolum	(1256)	RRR- α -Tocopherol	RRR- α -Tocophérol	RRR- α -Tocoferolo
Tolbutamidum	(0304)	Tolbutamide	Tolbutamide	Tolbutamide
Tolnaftatum	(1158)	Tolnaftate	Tolnaftate	Tolnaftato
Toresemidum anhydrous	(2132)	Torasemide, anhydrous	Torasémide anhydre	Torasemide anidra
Tormentillae rhizoma	(1478)	Tormentil	Tormentille	Tormentilla
Tormentillae tinctura	(1895)	Tormentil tincture	Tormentille (teinture de)	Tormentilla tintura
Tosylchloramidum natricum	(0381)	Tosylchloramide sodium	Tosylchloramide sodique	Tosilcloramide sodica
Toxinum botulinicum typum A ad iniectionabile	(2113)	Botulinum toxin type A for injection	Toxine botulinique type A pour préparation injectable	Tossina botulinica tipo A per preparazione iniettabile
Tragacantha	(0532)	Tragacanth	Gomme adragante	Gomma adragante
Tramadoli hydrochloridum	(1681)	Tramadol hydrochloride	Tramadol (chlorhydrate de)	Tramadolo cloridrato
Tramazolini hydrochloridum monohydricum	(1597)	Tramazoline hydrochloride monohydrate	Tramazoline (chlorhydrate de) monohydraté	Tramazolina cloridrato monidrato
Trandolaprilum	(2245)	Trandolapril	Trandolapril	Trandolapril
Trapidilum	(1576)	Trapidil	Trapidil	Trapidil
Tretinoinum	(0693)	Tretinoin	Trétinoïne	Tretinoina
Triacetinum	(1106)	Triacetin	Triacétine	Triacetina
Triamcinoloni acetamidum	(0533)	Triamcinolone acetamide	Triamcinolone (acétamide de)	Triamcinolone acetamide
Triamcinoloni hexacetamidum	(0867)	Triamcinolone hexacetamide	Triamcinolone (hexacétamide de)	Triamcinolone esacetamide
Triamcinolonum	(1376)	Triamcinolone	Triamcinolone	Triamcinolone
Triamterenum	(0058)	Triamterene	Triamtérene	Triamterene
Tribenosidum	(1740)	Tribenoside	Tribenoside	Tribenoside
Tributylis acetylcitras	(1770)	Tributyl acetylcitrate	Tributyle (acétylcitrate de)	Tributile acetile citrato
Tricalcii phosphas	(1052)	Calcium phosphate	Phosphate tricalcique	Calcio fosfato
Triethylis citras	(1479)	Triethyl citrate	Triéthyle (citrate de)	Trietile citrato
Trifluoperazini hydrochloridum	(0059)	Trifluoperazine hydrochloride	Trifluopérazine (chlorhydrate de)	Trifluoperazina cloridrato
Triflusalum	(1377)	Triflusal	Triflusal	Triflusal
Triglycerida saturata media	(0868)	Triglycerides, medium-chain	Triglycérides à chaîne moyenne	Trigliceridi saturati a catena media

Triglyceroli diisostearas	(2032)	Triglycerol diisostearate	Triglyceroli (diisostéarate de)	Triglicerolo diisostearato
Trigonellae foenugraeci semen	(1323)	Fenugreek	Fenugrec	Fieno greco
Trihexyphenidyl hydrochloridum	(1626)	Trihexyphenidyl hydrochloride	Trihexyphénidyle (chlorhydrate de)	Triesifenidile cloridrato
Trimetazidini dihydrochloridum	(1741)	Trimetazidine dihydrochloride	Trimétazidine (dichlorhydrate de)	Trimetazidina dicloridrato
Trimethadionum	(0440)	Trimethadione	Triméthadione	Trimetadione
Trimethoprimum	(0060)	Trimethoprim	Triméthoprime	Trimetoprim
Trimipramini maleas	(0534)	Trimipramine maleate	Trimipramine (maléate de)	Trimipramina maleato
Tritici aestivi oleum raffinatum	(1379)	Wheat-germ oil, refined	Germes de blé (huile de raffinée)	Olio di germe di grano raffinato
Tritici aestivi oleum virginale	(1480)	Wheat-germ oil, virgin	Germes de blé (huile de vierge)	Olio di germe di grano vergine
Tritici amyllum	(0359)	Wheat starch	Amidon de blé	Amido di frumento
Trolaminum	(1577)	Trolamine	Trolamine	Trolamina
Trometamololum	(1053)	Trometamol	Trométamol	Trometamolo
Tropicamidum	(1159)	Tropicamide	Tropicamide	Tropicamide
Tropisetroni hydrochloridum	(2102)	Tropisetron hydrochloride	Tropisétron (chlorhydrate de)	Tropisetrone cloridrato
Trospii chloridum	(1798)	Trospium chloride	Trospium (chlorure de)	Trospio cloruro
Troxerutinum	(2133)	Troxerutin	Troxérutine	Troxerutina
Trypsinum	(0694)	Trypsin	Trypsine	Tripsina
Tryptophanum	(1272)	Tryptophan	Tryptophane	Triptofano
Tuberculini aviarii derivatum proteinosum purificatum	(0535)	Tuberculin purified protein derivative, avian	Tuberculine aviaire (dérivé protéinique purifié de)	Tubercolina aviaria derivato proteico purificato
Tuberculini bovini derivatum proteinosum purificatum	(0536)	Tuberculin purified protein derivative, bovine	Tuberculine bovine (dérivé protéinique purifié de)	Tubercolina bovina derivato proteico purificato
Tuberculini derivatum proteinosum purificatum ad usum humanum	(0151)	Tuberculin purified protein derivative for human use	Tuberculine (dérivé protéinique purifié de) pour usage humain	Tubercolina derivato proteico purificato per uso umano
Tuberculinum pristinum ad usum humanum	(0152)	Tuberculin for human use, old	Tuberculine (vieille) pour usage humain	Tubercolina vecchia per uso umano
Tubocurarini chloridum	(0305)	Tubocurarine chloride	Tubocurarine (chlorure de)	Tubocurarina cloruro
Tylosini phosphastis solutio ad usum veterinarium	(1661)	Tylosin phosphate bulk solution for veterinary use	Tylosine (phosphate de) pour usage vétérinaire, solution en vrac de	Tilosina fosfato soluzione "in bulk" per uso veterinario
Tylosini tartras ad usum veterinarium	(1274)	Tylosin tartrate for veterinary use	Tylosine (tartrate de) pour usage vétérinaire	Tilosina tartrato per uso veterinario
Tylosinum ad usum veterinarium	(1273)	Tylosin for veterinary use	Tylosine pour usage vétérinaire	Tilosina per uso veterinario
Tyrosinum	(1161)	Tyrosine	Tyrosine	Tirosina
Tyrothricinum	(1662)	Tyrothricin	Tyrothricine	Tirotricina
Ubidecarenonum	(1578)	Ubidecarenone	Ubidécarénone	Ubidecarenone
Ureum	(0743)	Urea	Urée	Urea
Urofollitropinum	(0958)	Urofollitropin	Urofollitropine	Urofollitropina
Urokinasum	(0695)	Urokinase	Urokinase	Urokinasi
Urticae folium	(1897)	Nettle leaf	Ortie (feuille de)	Ortica foglia
Uvae ursi folium	(1054)	Bearberry leaf	Busserole (feuille de)	Uva ursina foglia
Valerianae extractum hydroalcoholicum siccum	(1898)	Valerian dry hydroalcoholic extract	Valériane (extrait hydroalcoolique sec de)	Valeriana estratto secco idroalcolico (sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)
Valerianae radix	(0453)	Valerian root	Valériane (racine de)	Valeriana radice
Valerianae tinctura	(1899)	Valerian tincture	Valériane (teinture de)	Valeriana tintura
Valinum	(0796)	Valine	Valine	Valina
Valnemulini hydrochloridum ad usum veterinarium	(2137)	Valnemulin hydrochloride for veterinary use	Valnémuline (chlorhydrate de) pour usage vétérinaire	Valnemulina cloridrato per uso veterinario
Vancomycini hydrochloridum	(1058)	Vancomycin hydrochloride	Vancomycine (chlorhydrate de)	Vancomicina cloridrato

Vanillinum	(0747)	Vanillin	Vanilline	Vanillina
Vaselinum album	(1799)	Paraffin, white soft	Vaseline blanche	Vaselina bianca (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Vaselinum flavum	(1554)	Paraffin, yellow soft	Vaseline jaune	Vaselina gialla
Vecuronii bromidum	(1769)	Vecuronium bromide	Vécuronium (bromure de)	Vecuronio bromuro
Venlafaxinum hydrochloridum	(2119)	Venlafaxine hydrochloride	Venlafaxine (chlorhydrate de)	Venlafaxina cloridrato
Verapamili hydrochloridum	(0573)	Verapamil hydrochloride	Vérápamil (chlorhydrate de)	Verapamil cloridrato
Verbasci flos	(1853)	Mullein flower	Bouillon blanc (fleur de)	Verbasco fiore
Verbenae citriodoratae folium	(1834)	Lemon verbena leaf	Verveine odorante (feuille de)	Verbena odorosa foglia
Verbenae herba	(1854)	Verbena herb	Verveine officinale	Verbena officinale
Vinblastini sulfas	(0748)	Vinblastine sulphate	Vinblastine (sulfate de)	Vinblastina solfato
Vincristini sulfas	(0749)	Vincristine sulphate	Vincristine (sulfate de)	Vincristina solfato
Vindesini sulfas	(1276)	Vindesine sulphate	Vindésine (sulfate de)	Vindesina solfato
Vinorelbini tartras	(2107)	Vinorelbine tartrate	Vinorelbine (tartrate de)	Vinorelbina tartrato
Vinpocetinum	(2139)	Vinpocetine	Vinpocétine	Vinpocetina
Violae herba cum flore	(1855)	Wild pansy (flowering aerial parts)	Pensée sauvage (parties aériennes fleuries de)	Viola del pensiero parti aeree fiorite
Vitaminum A	(0217)	Vitamin A	Vitamine A	Vitamina A
Vitaminum A syntheticum densatum oleosum	(0219)	Vitamin A concentrate (oily form), synthetic	Vitamine A synthétique (concentrat de), forme huileuse	Vitamina A sintetica concentrato oleoso
Vitaminum A syntheticum, solubilisatum densatum in aqua dispergibile	(0220)	Vitamin A concentrate (solu-bilisate/emulsion), synthetic	Vitamine A synthétique (concentrat de), solubilisat/émulsion	Vitamina A sintetica concentrato solubilizzato/emulsione
Vitaminum synthetici densati A pulvis	(0218)	Vitamin A concentrate (powder form), synthetic	Vitamine A synthétique (concentrat de), forme pulvérulente	Vitamina A sintetica concentrato polvere
Warfarinum natricum	(0698)	Warfarin sodium	Warfarine sodique	Warfarin sodico
Warfarinum natricum clathratum	(0699)	Warfarin sodium clathrate	Warfarine sodique clathrate	Warfarin sodico clatrato
Xanthani gummi	(1277)	Xanthan gum	Gomme xanthane	Gomma xantana
Xylazini hydrochloridum ad usum veterinarium	(1481)	Xylazine hydrochloride for veterinary use	Xylazine (chlorhydrate de) pour usage vétérinaire	Xilazina cloridrato per uso veterinario
Xylitolum	(1381)	Xylitol	Xylitol	Xilitolo
Xylometazolini hydrochloridum	(1162)	Xylometazoline hydrochloride	Xylométazoline (chlorhydrate de)	Xilometazolina cloridrato
Xylosum	(1278)	Xylose	Xylose	Xilosio
Yohimbini hydrochloridum	(2172)	Yohimbine hydrochloride	Yohimbine (chlorhydrate de)	Iombina cloridrato
Zidovudinum	(1059)	Zidovudine	Zidovudine	Zidovudina
Zinci acetat dihydricus	(1482)	Zinc acetate dihydrate	Zinc (acétate de) dihydraté	Zinco acetato diidrato
Zinci acexamas	(1279)	Zinc acexamate	Zinc (acéxamate de)	Zinco acexamato
Zinci chloridum	(0110)	Zinc chloride	Zinc (chlorure de)	Zinco cloruro
Zinci oxidum	(0252)	Zinc oxide	Zinc (oxyde de)	Zinco ossido
Zinci stearas	(0306)	Zinc stearate	Zinc (stéarate de)	Zinco stearato
Zinci sulfas heptahydricus	(0111)	Zinc sulphate heptahydrate	Zinc (sulfate de) heptahydraté	Zinco solfato eptaidrato
Zinci sulfas hexahydricus	(1683)	Zinc sulphate hexahydrate	Zinc (sulfate de) hexahydraté	Zinco solfato esaidrato
Zinci sulphas monohydricus	(2159)	Zinc sulphate monohydrate	Zinc (sulfate de) monohydraté	Zinco solfato monoidrato
Zinci undecylenas	(0539)	Zinc undecylenate	Zinc (undécylénate de)	Zinco undecilenato
Zingiberis rhizoma	(1522)	Ginger	Gingembre	Zenzero
Zolpidemi tartras	(1280)	Zolpidem tartrate	Zolpidem (tartrate de)	Zolpidem tartrato
Zopiclonum	(1060)	Zopiclone	Zopiclone	Zopiclone
Zuclopenthixoli decanoas	(1707)	Zuclopenthixol decanoate	Zuclopenthixol (décanoate de)	Zuclopentixolo decanoato

**Entrata in vigore dei testi, nelle lingue inglese e francese,
pubblicati nel supplemento 6.1 della Farmacopea europea**

IL MINISTRO DELLA SALUTE

Visto l'art. 124 del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, modificato dalla legge 7 novembre 1942, n. 1528;

Visto il regolamento per il servizio farmaceutico, approvato con regio decreto 30 settembre 1938, n. 1706;

Vista la legge 9 novembre 1961, n. 1242, relativa alla revisione e pubblicazione della Farmacopea ufficiale;

Vista la legge 22 ottobre 1973, n. 752, relativa alla ratifica ed esecuzione della Convenzione europea per la elaborazione di una Farmacopea europea, adottata a Strasburgo il 22 luglio 1964;

Vista la legge 23 dicembre 1978, n. 833, sulla istituzione del Servizio sanitario nazionale;

Visto l'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, relativa alle disposizioni per l'adempimento degli obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alla Comunità europea (legge comunitaria 1995-1997);

Vista la risoluzione AP- CSP (07) 3 adottata in data 23 marzo 2007 dal Consiglio d'Europa, Comitato di sanità pubblica, con la quale è stata decisa l'entrata in vigore dal 1° aprile 2008 del supplemento 6.1 della Farmacopea europea;

Ritenuto di dovere disporre l'entrata in vigore nel territorio nazionale dei testi adottati dalla richiamata risoluzione, come previsto dal citato art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, nonché di chiarire che i testi nelle lingue inglese e francese di cui al presente provvedimento sono esclusi dall'ambito di applicazione della disposizione contenuta nell'art. 123, primo comma, lettera b), del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265;

Decreta:

Art. 1.

1. I testi nelle lingue inglese e francese dei capitoli generali e delle monografie pubblicati nel supplemento 6.1 della Farmacopea europea, elencati nell'allegato al presente decreto, entrano in vigore nel territorio nazionale, come facenti parte della Farmacopea ufficiale della Repubblica italiana, dal 1° aprile 2008.

2. I testi nelle lingue inglese e francese richiamati al comma 1 non sono oggetto degli obblighi previsti dall'art. 123, primo comma, lettera b), del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265. Gli stessi testi, ai sensi dell'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, sono posti a disposizione di qualunque interessato per consultazione e chiarimenti presso la segreteria tecnica della commissione permanente per la revisione e la pubblicazione della Farmacopea ufficiale di cui alla legge 9 novembre 1961, n. 1242.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, 31 marzo 2008

Il Ministro: TURCO

CONTENUTO DEL SUPPLEMENTO 6.1 DELLA FARMACOPEA EUROPEA

NUOVI TESTI

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.2.60.	Melting point-instrumental method	Point de fusion -méthode instrumentale	Punto di fusione-metodo strumentale
5.15.	Functionality-related characteristics of excipients	Caractéristiques liées à la fonctionnalité des Excipients	Caratteristiche correlate alla funzionalità degli eccipienti

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acemetacinum	(1686)	Acemetacin	Acémétacine	Acemetacina
Acidum niflumicum	(2115)	Niflumic acid	Niflumique (acide)	Acido niflumico
Bisoprololi fumaras	(1710)	Bisoprolol fumarate	Bisoprolol (fumarate de)	Bisoprololo fumarato
Boldii folii extractum siccum	(1816)	Boldo leaf dry extract	Boldo (feuille de), extrait sec de	Boldo foglia estratto secco
Clopidamidum	(1747)	Clopidamide	Clopidamide	Clopidamide
Desfluranum	(1666)	Desflurane	Desflurane	Desflurano
Ginkgonis extractum siccum raffinatum et quantificatum	(1827)	Ginkgo dry extract, refined and quantified	Ginkgo (extrait sec raffiné et quantifié de)	Ginkgo estratto secco, raffinato e quantificato
Liquiritiae extractum siccum ad saporandum	(2378)	Liquorice dry extract for flavouring purposes	Réglisse (extrait sec de) pour aromatisation	Liquirizia estratto secco per aromatizzazione
Magnesii gluconas	(2161)	Magnesium gluconate	Magnésium (gluconate de)	Magnesio gluconato
Mangani gluconas	(2162)	Manganese gluconate	Manganèse (gluconate de)	Manganese gluconato
Marbofloxacinum ad usum veterinarium	(2233)	Marbofloxacin for veterinary use	Marbofloxacin pour usage vétérinaire	Marbofloxacin per uso veterinario
Molsidominum	(1701)	Molsidomine	Molsidomine	Molsidomina
Natrii phenylbutyras	(2183)	Sodium phenylbutyrate	Sodium (phénylbutyrate de)	Sodio fenilbutirrato
Pantoprazolum natricum sesquihydricum	(2296)	Pantoprazole sodium sesquihydrate	Pantoprazole sodique sesquihydraté	Pantoprazolo sodico sesquidrato
Sacchari monopalmitas	(2319)	Sucrose monopalmitate	Saccharose (monopalmitate de)	Saccarosio monopalmitato
Sacchari stearas	(2318)	Sucrose stearate	Saccharose (stéarate de)	Saccarosio stearato
Salicis corticis extractum siccum	(2312)	Willow bark dry extract	Saule (écorce de), extrait sec d'	Salice corteccia estratto secco
Sanguisorbae radix	(2385)	Sanguisorba root	Sanguisorbe (racine de)	Sanguisorba radice (Salvastrella)
Selamectinum ad usum veterinarium	(2268)	Selamectin for veterinary use	Selamectine pour usage vétérinaire	Selamectina per uso veterinario
Sertralini hydrochloridum	(1705)	Sertraline hydrochloride	Sertraline (chlorhydrate de)	Sertralina cloridrato

TESTI REVISIONATI

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.9.40.	Uniformity of dosage units	Uniformité des préparations unidoses	Uniformità della unità di dosaggio
4.	Reagents (<i>new, revised, corrected</i>)	Réactifs (<i>nouveaux, révisés, corrigés</i>)	Reattivi (<i>nuovi, revisionati, corretti</i>)
5.2.7.	Evaluation of efficacy of veterinary vaccines and immunosera	Évaluation de l'efficacité des vaccins et immunosérum vétérinaires	Valutazione dell'efficacia dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario

MONOGRAFIE

MONOGRAFIE GENERALI

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Extracta	(0765)	Extracts	Extraits	Estratti

VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum febris flavae vivum	(0537)	Yellow fever vaccine (live)	Vaccin vivant de la fièvre jaune	Vaccino vivo della febbre gialla
Vaccinum morbillorum vivum	(0213)	Measles vaccine (live)	Vaccin rougeoleux vivant	Vaccino vivo del morbillo
Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum	(1057)	Measles, mumps and rubella vaccine (live)	Vaccin rougeoleux, des oreillons et rubéoleux, vivant	Vaccino vivo del morbillo, della parotite e della rosolia
Vaccinum parotitidis vivum	(0538)	Mumps vaccine (live)	Vaccin vivant des oreillons	Vaccino vivo della parotite
Vaccinum poliomyelitis perorale	(0215)	Poliomyelitis vaccine (oral)	Vaccin poliomyélitique oral	Vaccino poliomieltico per uso orale
Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum	(0216)	Rabies vaccine for human use prepared in cell cultures	Vaccin rabique pour usage humain préparé sur cultures cellulaires	Vaccino della rabbia per uso umano, preparato in colture cellulari
Vaccinum rubellae vivum	(0162)	Rubella vaccine (live)	Vaccin rubéoleux vivant	Vaccino vivo della rosolia
Vaccinum varicellae vivum	(0648)	Varicella vaccine (live)	Vaccin varicelleux vivant	Vaccino vivo della varicella
Vaccinum variolae vivum	(0164)	Smallpox vaccine (live)	Vaccin vivant de la variole	Vaccino vivo del vaiolo

VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum bronchitidis infectivae aviariae vivum	(0442)	Avian infectious bronchitis vaccine (live)	Vaccin vivant de la bronchite infectieuse aviaire	Vaccino vivo della bronchite infettiva aviaria
Vaccinum rabiei inactivatum ad usum veterinarium	(0451)	Rabies vaccine (inactivated) for veterinary use	Vaccin rabique inactivé pour usage vétérinaire	Vaccino inattivato della rabbia per uso veterinario

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Alfuzosini hydrochloridum	(1287)	Alfuzosin hydrochloride	Alfuzosine (chlorhydrate d')	Alfuzosina cloridrato
Aluminii hydroxidum hydricum ad adsorptionem	(1664)	Aluminium hydroxide, hydrated, for adsorption	Aluminium (hydroxide d') hydraté pour adsorption	Alluminio ossido idrato
Arnicae flos	(1391)	Arnica flower	Arnica (fleur d')	Arnica fiore
Atropini sulfas	(0068)	Atropine sulphate	Atropine (sulfate d')	Atropina solfato
Atropinum	(2056)	Atropine	Atropine	Atropina
Carbomera	(1299)	Carbomers	Carbomères	Carbomeri
Cefadroxilum monohydricum	(0813)	Cefadroxil monohydrate	Céfadroxil monohydraté	Cefadroxil monoidrato
Cefalexinum monohydricum	(0708)	Cefalexin monohydrate	Céfaléxine monohydraté	Cefalexina monoidrato
Chlorphenamini maleas	(0386)	Chlorphenamine maleate	Chlorphénamine (maléate de)	Clorfenamina maleato
Clotrimazolum	(0757)	Clotrimazole	Clotrimazole	Clotrimazolo
Codeinum	(0076)	Codeine	Codéine	Codeina
Coffeinum	(0267)	Caffeine	Caféine	Caffeina
Diethylis phthalas	(0897)	Diethyl phthalate	Diéthyle (phtalate de)	Dietile ftalato
Dihydroergotamini mesilas	(0551)	Dihydroergotamine mesilate	Dihydroergotamine (mésilate de)	Diidroergotamina mesilato
Diltiazemi hydrochloridum	(1004)	Diltiazem hydrochloride	Diltiazem (chlorhydrate de)	Diltiazem cloridrato
Dinatrii phosphas dodecahydricus	(0118)	Disodium phosphate dodecahydrate	Phosphate disodique dodécahydraté	Sodio fosfato dibasico dodecaidrato
Doxepini hydrochloridum	(1096)	Doxepin hydrochloride	Doxépine (chlorhydrate de)	Doxepina cloridrato
Estradioli benzoas	(0139)	Estradiol benzoate	Estradiol (benzoate d')	Estradiolo benzoato
Ethambutoli hydrochloridum	(0553)	Ethambutol hydrochloride	Éthambutol (chlorhydrate d')	Etambutolo cloridrato
Glutathionum	(1670)	Glutathione	Glutathion	Glutatione
Hamamelidis folium	(0909)	Hamamelis leaf	Hamamélis (feuille d')	Amamelide foglia

Harpagophyti radix	(1095)	Devil's claw root	Harpagophyton (racine d')	Arpagofito radice
Hibisci sabdariffae flos	(1623)	Roselle	Karkadé	Carcadé
Hydrastis rhizoma	(1831)	Goldenseal rhizome	Hydrastis	Idraste rizoma (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Hypromellosi phthalas	(0347)	Hypromellose phthalate	Hypromellose (phtalate d')	Ipromellosa ftalato
Hypromellosum	(0348)	Hypromellose	Hypromellose	Ipromellosa
Ibuprofenum	(0721)	Ibuprofen	Ibuprofène	Ibuprofene
Lidocainum	(0727)	Lidocaine	Lidocaïne	Lidocaina
Liothyroninum natricum	(0728)	Liothyronine sodium	Liothyronine sodique	Liotironina sodica
Lupuli flos	(1222)	Hop strobile	Houblon (cône de)	Luppolo fiore
Lymecyclinum	(1654)	Lymecycline	Lymécycline	Limeciclina
Morphini hydrochloridum	(0097)	Morphine hydrochloride	Morphine (chlorhydrate de)	Morfina cloridrato
Morphini sulfas	(1244)	Morphine sulphate	Morphine (sulfate de)	Morfina solfato
Nifuroxazidum	(1999)	Nifuroxazide	Nifuroxazide	Nifuroxazide
Povidonum	(0685)	Povidone	Povidone	Povidone
Rusci rhizoma	(1847)	Butcher's broom	Petit houx	Rusco rizoma (Pungitopo)
Salicis cortex	(1583)	Willow bark	Saule (écorce de)	Salice corteccia
Spiramycinum	(0293)	Spiramycin	Spiramycine	Spiramicina
Sultamicillinum	(2211)	Sultamicillin	Sultamicilline	Sultamicillina
Tetracaini hydrochloridum	(0057)	Tetracaine hydrochloride	Tétracaine (chlorhydrate de)	Tetracaina cloridrato
Triamterenum	(0058)	Triamterene	Triamtérene	Triamterene
Triglyceroli diisostearas	(2032)	Triglycerol diisostearate	Triglyceroli (diisostéarate de)	Triglicerolo diisostearato
Uvae ursi folium	(1054)	Bearberry leaf	Busserole (feuille de)	Uva ursina foglia

TESTI CORRETTI CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.2.34.	Thermal analysis	Analyse thermique	Analisi termica
2.4.31.	Nickel in hydrogenated vegetable oils	Nickel dans les huiles végétales hydrogénées	Nickel negli oli vegetali idrogenati (<i>la correzione riguarda solo il testo francese</i>)
2.6.7.	Mycoplasmas	Mycoplasmes	Micoplasmi
2.9.43.	Apparent dissolution	Dissolution apparente	Dissoluzione apparente

MONOGRAFIE VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum rhinitidis atrophicantis ingravescentis suillae inactivatum	(1361)	Porcine progressive atrophic rhinitis vaccine (inactivated)	Vaccin inactivé de la rhinite atrophique progressive du porc	Vaccino inattivato della rinite atrofica progressiva del suino (<i>la correzione riguarda solo il testo inglese</i>)

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Iobenguani sulfas ad radiopharmaceutica	(2351)	Iobenguane sulphate for radiopharmaceutical preparations	Iobenguane (sulphate de) pour préparations radiopharmaceutiques	Iobenguanio solfato per preparazioni radiofarmaceutiche

PREPARAZIONI OMEOPATICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Via praeparandi stirpes homoeopathicas et potentificandi	(2371)	Methods of preparation of homoeopathic stocks and potentisation	Méthodes de préparation des souches homéopathiques et de déconcentration	Metodi di preparazione dei materiali di partenza omeopatici e diluizioni

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Amikacini sulfas	(1290)	Amikacin sulphate	Amikacine (sulfate d')	Amikacina solfato
Amikacinum	(1289)	Amikacin	Amikacine	Amikacina

Bacampicillini hydrochloridum	(0808)	Bacampicillin hydrochloride	Bacampicilline (chlorhydrate de)	Bacampicillina cloridrato
Cilastatinum natricum	(1408)	Cilastatin sodium	Cilastatine sodique	Cilastatina sodica
Clemastini fumaras	(1190)	Clemastine fumarate	Clémastine (fumarate de)	Clemastina fumarato
Dihydralazini sulfas hydricus	(1310)	Dihydralazine sulphate hydrated	Dihydralazine (sulfate de) hydraté	Diidralazina solfato idrato
Dirithromycinum	(1313)	Dirithromycin	Dirithromycine	Diritromicina
Doxylamini hydrogenosuccinas	(1589)	Doxylamine hydrogen succinate	Doxylamine (hydrogénosuccinate de)	Doxilamina idrogeno succinato
Glyceroli trinitratis solutio	(1331)	Glyceryl trinitrate solution	Glycèreyle (trinitrate de), solution de	Glicerolo trinitrato soluzione
Hypromellosum	(0348)	Hypromellose	Hypromellose	Ipromellosa
Methylcellulosum	(0345)	Methylcellulose	Méthylcellulose	Metilcellulosa
Myrtilli fructus recens	(1602)	Bilberry fruit, fresh	Myrtille (fruit frais de)	Mirtillo nero frutto fresco
Naproxenum natricum	(1702)	Naproxen sodium	Naproxène sodique	Naproxene sodico
Paclitaxelum	(1794)	Paclitaxel	Paclitaxel	Paclitaxel
Phenoxymethylpenicillinum	(0148)	Phenoxymethylpenicillin	Phénoxyméthylpénicilline	Fenossimetilpenicillina
Phenoxymethylpenicillinum kalicum	(0149)	Phenoxymethylpenicillin potassium	Phénoxyméthylpénicilline potassique	Fenossimetilpenicillina potassica
Sertaconazoli nitras	(1148)	Sertaconazole nitrate	Sertaconazole (nitrate de)	Sertaconazolo nitrato
Sultamicillini tosilas dihydricus	(2212)	Sultamicillin tosilate dihydrate	Sultamicilline (tosilate de) dihydraté	Sultamicillina tosilato diidrato
Terconazololum	(1270)	Terconazole	Terconazole	Terconazolo
Terfenadinum	(0955)	Terfenadine	Terfénadine	Terfenadina
Xanthani gummi	(1277)	Xanthan gum	Gomme xanthane	Gomma xantana

TESTI ELIMINATI

I testi riportati di seguito sono eliminati dalla Farmacopea Europea a partire dal 1 aprile 2008

MONOGRAFIE VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum pertussis	(0160)	Pertussis vaccine	Vaccin coquelucheux	Vaccino pertossico

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Stanozololum	(1568)	Stanozolol	Stanozolol	Stanozololo

**Entrata in vigore dei testi, nelle lingue inglese e francese,
pubblicati nel Supplemento 6.2. della Farmacopea Europea**

IL MINISTRO DELLA SALUTE

Visto l'art. 124 del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, modificato dalla legge 7 novembre 1942, n. 1528;

Visto il regolamento per il servizio farmaceutico, approvato con regio decreto 30 settembre 1938 n. 1706;

Vista la legge 9 novembre 1961, n. 1242, relativa alla revisione e pubblicazione della Farmacopea ufficiale;

Vista la legge 22 ottobre 1973, n. 752, relativa alla ratifica ed esecuzione della Convenzione europea per la elaborazione di una Farmacopea Europea, adottata a Strasburgo il 22 luglio 1964;

Vista la legge 23 dicembre 1978, n. 833 sulla istituzione del Servizio sanitario nazionale;

Visto l'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, relativa alle disposizioni per l'adempimento degli obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alla Comunità europea (legge comunitaria 1995 - 1997);

Vista la risoluzione AP-CSP (07) 4 adottata in data 23 marzo 2007 dal Consiglio d'Europa, Comitato di sanità pubblica, con la quale è stata decisa l'entrata in vigore dal 1° luglio 2008 del Supplemento 6.2 della Farmacopea Europea (allegato 1).

Ritenuto di dovere disporre l'entrata in vigore nel territorio nazionale dei testi adottati dalla richiamata risoluzione, come previsto dal citato art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, nonché di chiarire che i testi nelle lingue inglese e francese di cui al presente provvedimento sono esclusi dall'ambito di applicazione della disposizione contenuta nell'art. 123, primo comma, lettera *b*), del Testo Unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265;

Decreta:

Art. 1.

1. I testi nelle lingue inglese e francese dei capitoli generali e delle monografie pubblicati nel Supplemento 6.2 della Farmacopea Europea, elencati nell'allegato al presente decreto, entrano in vigore nel territorio nazionale, come facenti parte della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana, dal 1° luglio 2008.

2. I testi nelle lingue inglese e francese richiamati al comma 1 non sono oggetto degli obblighi previsti dall'art. 123, primo comma, lettera *b*), del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto del 27 luglio 1934, n. 1265. Gli stessi testi, ai sensi dell'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128 sono posti a disposizione di qualunque interessato per consultazione e chiarimenti presso il segretariato della Commissione permanente per la revisione e la pubblicazione della Farmacopea ufficiale di cui alla legge 9 novembre 1961, n. 1242.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, 4 luglio 2008

p. *Il Ministro*
Il Sottosegretario di Stato
FAZIO

CONTENUTO DEL SUPPLEMENTO 6.2 DELLA FARMACOPEA EUROPEA

NUOVI TESTI

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.7.25.	Assay of human plasmin inhibitor	Dosage de l'inhibiteur de plasmine humain	Dosaggio dell'inibitore della plasmina umana
2.7.30.	Assay of human protein C	Dosage de la protéine C humaine	Dosaggio della proteina C umana
2.7.31.	Assay of human protein S	Dosage de la protéine S humaine	Dosaggio della proteina S umana
2.7.32.	Assay of human α -1-proteinase inhibitor	Dosage de l'inhibiteur d' α -1-protéinase humain	Dosaggio dell'inibitore dell' α -1-proteinasi umana
2.9.32.	Porosity and pore-size distribution of solids by mercury porosimetry	Porosité et distribution de la taille des pores des substances solides par porosimétrie au mercure	Porosità e distribuzione della dimensione dei pori dei solidi mediante porosimetria al mercurio
2.9.34.	Bulk density and tapped density of powders	Masse volumique vrac et masse volumique après tassement	Densità d'insieme (bulk density) e densità da compattazione (tapped density) delle polveri
2.9.35.	Powder fineness	Finesse des poudres	Finezza delle polveri

MONOGRAFIE

VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum coccidiosis vivum ad pullum	(2326)	Coccidiosis vaccine (live) for chickens	Vaccin vivant de la coccidiose pour le poulet	Vaccino vivo della coccidiosi per i polli

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Adrenalinum	(2303)	Adrenaline	Adrénaline	Adrenalina (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Altiazidum	(2185)	Altizide	Altizide	Altiazide
Carprofenum ad usum veterinarium	(2201)	Carprofen for veterinary use	Carprofène pour usage vétérinaire	Carprofene per uso veterinario
Dinatri clodronas tetrahydricus	(1777)	Clodronate disodium tetrahydrate	Clodronate disodique tétrahydraté	Clodronato disodico tetraidrato
Flucloxacillinum magnesium octahydricum	(2346)	Flucloxacillin magnesium octahydrate	Flucloxacilline magnésique octahydratée	Flucloxacillina sale di magnesio ottaidrato
Fluvoxamini maleas	(1977)	Fluvoxamine maleate	Fluvoxamine (maléate de)	Fluvoxamina maleato
Hyperici herba	(1874)	St. John's wort dry extract, quantified	Millepertuis (extrait sec quantifié de)	Iperico estratto secco, quantificato
Myrtilli fructus recentis extractum siccum raffinatum et normatum	(2394)	Fresh bilberry fruit dry extract, refined and standardised	Myrtille (fruit frais de), extrait sec purifié et titré de	Mirtillo frutto fresco estratto secco, purificato e titolato (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.</i>)
Nilutamidum	(2256)	Nilutamide	Nilutamide	Nilutamide
α -1-Proteinasi inhibitor humanum	(2387)	Human α -1-proteinase inhibitor	Inhibiteur d' α -1-protéinase humain	Inibitore dell' α -1-proteinasi umana
Racecadrotrilum	(2171)	Racecadotril	Racécadotril	Racecadotril
Salvia lavandulifoliae aetheroleum	(1849)	Spanish sage oil	Sauge d'Espagne (huile essentielle de)	Salvia di Spagna essenza
Telmisartanum	(2154)	Telmisartan	Telmisartan	Telmisartan

TESTI REVISIONATI

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.6.26.	Test for anti-D antibodies in human immunoglobulin for intravenous administration	Recherche des anticorps anti-D dans l'immunoglobuline humaine pour administration par voie intraveineuse	Saggio per gli anticorpi anti-D nella immunoglobulina umana per somministrazione endovenosa
2.8.13.	Pesticide residues	Résidus de pesticides	Residui di pesticidi
2.9.9.	Measurement of consistency by penetrometry	Mesure de la consistance par pénétrométrie	Misura della consistenza per penetrometria
2.9.23.	Gas pycnometric density of solids	Masse volumique des solides par pycnométrie à gaz	Densità dei solidi mediante picnometria a gas
2.9.38.	Particle-size distribution estimation by analytical sieving	Estimation de la distribution granulométrique par tamisage analytique	Distribuzione delle dimensioni delle particelle mediante setacciatura analitica
4.	Reagents (<i>new, revised, corrected</i>)	Réactifs, solutions et substances étalons (<i>nouveaux, révisés, corrigés</i>)	Reattivi (<i>nuovi, revisionati, corretti</i>)

MONOGRAFIE

VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum furunculosis ad salmonidas inactivatum cum adiuvatione oleosa ad iniectionem	(1521)	Furunculosis vaccine (inactivated, oil-adjuvanted, injectable) for salmonids	Vaccin inactivé, injectable, à adjuvant huileux, de la furunculose pour salmonidés	Vaccino inattivato della furunculosi dei salmonidi preparazione iniettabile con adiuvante oleoso
Vaccinum pestis classicae suillae vivum ex cellulis	(0065)	Swine-fever vaccine (live, prepared in cell cultures), classical	Vaccin vivant de la peste porcine classique préparé sur cultures cellulaires	Vaccino vivo della peste suina classica preparato in colture cellulari
Vaccinum vibriosidis ad salmonidas inactivatum	(1581)	Vibriosis vaccine (inactivated) for salmonids	Vaccin inactivé de la vibriose pour salmonidés	Vaccino inattivato della vibriosi dei salmonidi
Vaccinum vibriosidis aquae frigidae inactivatum ad salmonidas	(1580)	Vibriosis (cold-water) vaccine (inactivated) for salmonids	Vaccin inactivé de la vibriose des eaux froides pour salmonidés	Vaccino inattivato della vibriosi d'acqua fredda dei salmonidi

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Chromii (⁵¹ Cr) edetatis solutio iniectionis	(0266)	Chromium (⁵¹ Cr) edetate injection	Chrome (⁵¹ Cr) (édétate de), solution injectable d'	Cromo (⁵¹ Cr) edetato preparazione iniettabile
Fludeoxyglucosi (¹⁸ F) solutio iniectionis	(1325)	Fludeoxyglucose (¹⁸ F) injection	Fludésoxyglucose (¹⁸ F) (solution injectable de)	Fludesossiglucosio (¹⁸ F) preparazione iniettabile

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acaciae gummi	(0307)	Acacia	Gomme arabique	Gomma arabica
Acaciae gummi dispersione desiccata	(0308)	Acacia, spray-dried	Gomme arabique (nébulisée)	Gomma arabica, liofilizzato
Aceclofenacum	(1281)	Aceclofenac	Acéclofénac	Aceclofenac
Acidum alginicum	(0591)	Alginic acid	Acide alginique	Acido alginico
Betulae folium	(1174)	Birch leaf	Bouleau (feuille de)	Betulla foglia
Calcii carbonas	(0014)	Calcium carbonate	Calcium (carbonate de)	Calcio carbonato
Calcii dobesilas monohydricum	(1183)	Calcium dobesilate monohydrate	Calcium (dobésilate de) monohydraté	Calcio dobesilato monoidrato
Capsici fructus	(1859)	Capsicum	Piment de Cayenne	Capsico (Pepe di Cayenna, Peperoncino) (<i>sostituisce la monografia nazionale Capsico della FU XI ed.</i>)
Cellulosi pulvis	(0315)	Cellulose, powdered	Cellulose en poudre	Cellulosa polvere
Cellulosum microcrystallinum	(0316)	Cellulose, microcrystalline	Cellulose microcristalline	Cellulosa microcristallina

Cinchonae cortex	(0174)	Cinchona bark	Quinquina	China corteccia
Cyclizini hydrochloridum	(1092)	Cyclizine hydrochloride	Cyclizine (chlorhydrate de)	Ciclizina cloridrato
Dihydrostreptomycini sulfas ad usum veterinarium	(0485)	Dihydrostreptomycin sulphate for veterinary use	Dihydrostreptomycine (sulfate de) pour usage vétérinaire	Diidrostreptomicina solfato per uso veterinario
Etamsylatum	(1204)	Etamsylate	Étamsylate	Etamsilato
Glucosum liquidum	(1330)	Glucose, liquid	Glucose liquide	Glucosio liquido
Harpagophyti radix	(1095)	Devil's claw root	Harpagophyton (racine d')	Arpagofito radice
Hydroxypropylbetadexum	(1804)	Hydroxypropylbetadex	Hydroxypropylbetadex	Idrossipropilbetadex
Hyperici herba	(1438)	St. John' wort	Millepertuis	Iperico
Imipramini hydrochloridum	(0029)	Imipramine hydrochloride	Imipramine (chlorhydrate d')	Imipramina cloridrato
Immunoglobulinum humanum anti-D	(0557)	Human anti-D immunoglobulin	Immunoglobuline humaine anti-D	Immunoglobulina umana anti-D
Immunoglobulinum humanum normale	(0338)	Human normal immunoglobulin	Immunoglobuline humaine normale	Immunoglobulina umana normale
Magnesii subcarbonas ponderosus	(0043)	Magnesium carbonate, heavy	Magnésium (carbonate de) lourd	Magnesio carbonato pesante
Methyltestosteronum	(0410)	Methyltestosterone	Méthyltestostérone	Metiltestosterone
Metoclopramidum	(1348)	Metoclopramide	Métoclopramide	Metoclopramide
Naproxenum	(0731)	Naproxen	Naproxène	Naproxene
Natrii hyaluronas	(1472)	Sodium hyaluronate	Sodium (hyaluronate de)	Sodio ialuronato
Norfloxacinum	(1248)	Norfloxacin	Norfloxacine	Norfloxacina
Ofloxacinum	(1455)	Ofloxacin	Ofloxacine	Ofloxacina
Orciprenalini sulfas	(1033)	Orciprenaline sulphate	Orciprénaline (sulfate d')	Orciprenalina solfato
Oxacillinum natricum monohydricum	(2260)	Oxacillin sodium monohydrate	Oxacilline sodique monohydratée	Oxacillina sodica monoidrata
Oxfendazolium ad usum veterinarium	(1458)	Oxfendazole for veterinary use	Oxfendazole pour usage vétérinaire	Oxfendazolo per uso veterinario
Plasma humanum ad separationem	(0853)	Human plasma for fractionation	Plasma humain pour fractionnement	Plasma umano per frazionamento
Plasma humanum coag-mentatum conditumque ad exstinguendum virum	(1646)	Human plasma (pooled and treated for virus inactivation)	Plasma humain (mélange de) traité pour viro-inactivation	Plasma umano (raccolto e trattato per inattivare i virus)
Pseudoephedrini hydrochloridum	(1367)	Pseudoephedrine hydrochloride	Pseudoéphédrine (chlorhydrate de)	Pseudoefedrina cloridrato
Ramiprilum	(1368)	Ramipril	Ramipril	Ramipril
Soiae oleum raffinatum	(1473)	Soya-bean oil, refined	Soja (huile de) raffinée	Olio di semi di soia raffinato
Streptokinasi solutio concentrata	(0356)	Streptokinase concentrated solution	Streptokinase (solution concentrée de)	Streptochinasi soluzione concentrata
Sulfacetamidum natricum	(0107)	Sulfacetamide sodium	Sulfacétamide sodique	Sulfacetamide sodica
Tinidazolium	(1051)	Tinidazole	Tinidazole	Tinidazolo
Vaselinum album	(1799)	Paraffin, white soft	Vaseline blanche	Vaselina bianca (sostituisce la monografia nazionale della FU XI ed.)
Vaselinum flavum	(1554)	Paraffin, yellow soft	Vaseline jaune	Vaselina gialla
Zingiberis rhizoma	(1522)	Ginger	Gingembre	Zenzero

TESTI CORRETTI CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.4.29	Composition of fatty acids in oils rich in omega-3 acids	Composition en acides gras des huiles riches en acides oméga-3	Composizione in acidi grassi degli oli ricchi di acidi grassi omega-3
3.1.13.	Plastic additives	Additifs pour plastiques	Additivi per plastica

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acidi methacrylici et ethylis acrylas polymerisatum 1:1	(1128)	Methacrylic acid – ethyl acrylate copolymer (1:1)	Copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle (1:1)	Acido metacrilico – etile acrilato copolimero (1:1)

Agni casti fructus	(2147)	Agnus castus fruit	Gattilier (fruit de)	Agnocasto frutto
Alcohol cetylicus et stearylicus emulsificans A	(0801)	Cetostearyl alcohol (type A), emulsifying	Cétostéarylique (alcool) émulsifiant (type A)	Alcool cetostearilico emulsionante (tipo A)
Alcohol cetylicus et stearylicus emulsificans B	(0802)	Cetostearyl alcohol (type B), emulsifying	Cétostéarylique (alcool) émulsifiant (type B)	Alcool cetostearilico emulsionante (tipo B)
Aprotinini solutio concentrata	(0579)	Aprotinin concentrated solution	Aprotinine (solution concentrée d')	Aprotinina soluzione concentrata
Arachidis oleum hydrogenatum	(1171)	Arachis oil, hydrogenated	Arachide (huile d')	Olio di arachidi idrogenato
Cetirizini dihydrochloridum	(1084)	Cetirizine dihydrochloride	Cétirizine (dichlorhydrate de)	Cetirizina dicloridrato
Dimeticonum	(0138)	Dimeticone	Diméticone	Dimeticone
Gossypii oleum hydrogenatum	(1305)	Cottonseed oil, hydrogenated	Coton (huile de) hydrogénée	Olio di semi di cotone idrogenato
Helianthi annui oleum raffinatum	(1371)	Sunflower oil, refined	Tournesol (huile de) raffinée	Olio di girasole raffinato
Ipratropii bromidum	(0919)	Ipratropium bromide	Ipratropium (bromure d')	Ipratropio bromuro
Kalii chloridum	(0185)	Potassium chloride	Potassium (chlorure de)	Potassio cloruro
Maydis oleum raffinatum	(1342)	Maize oil, refined	Maïs (huile de) raffinée	Olio di mais raffinato
Morphini sulfas	(1244)	Morphine sulphate	Morphine (sulfate de)	Morfina solfato
Moxifloxacini hydrochloridum	(2254)	Moxifloxacin hydrochloride	Moxifloxacin (chlorhydrate de)	Moxifloxacina cloridrato
Olivae oleum raffinatum	(1456)	Olive oil, refined	Olive (huile d') raffinée	Olio di oliva raffinato
Olivae oleum virginale	(0518)	Olive oil, virgin	Olive (huile d') vierge	Olio di oliva vergine
Pancreatis pulvis	(0350)	Pancreas powder	Pancréas (poudre de)	Pancreas polvere
Poly(vinylis acetate) dispersio 30 per centum	(2152)	Poly(vinyl acetate) dispersion 30 per cent	Poly(acétate de vinyle) (dispersion de) à 30 pour cent	Polivinile acetato dispersione 30 per cento
Rapae oleum raffinatum	(1369)	Rapeseed oil, refined	Colza (huile de) raffinée	Olio di colza raffinato
Soiae oleum hydrogenatum	(1265)	Soya-bean oil, hydrogenated	Soja (huile de) hydrogénée	Olio di semi di soia idrogenato
Sulbactamum natrium	(2209)	Sulbactam sodium	Sulbactam sodique	Sulbactam sodico
Tobramycinum	(0645)	Tobramycin	Tobramycine	Tobramicina

**TESTI ADATTATI AL NUOVO STILE EDITORIALE
MONOGRAFIE**

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Agar	(0310)	Agar	Agar-agar	Agar
Aloes extractum siccum normatum	(0259)	Aloes dry extract, standardised	Aloès (extrait sec titré d')	Aloe estratto secco titolato
Arachidis oleum hydrogenatum	(1171)	Arachis oil, hydrogenated	Arachide (huile d') hydrogénée	Olio di arachidi idrogenato
Balsamum peruvianum	(0754)	Peru balsam	Baume du Pérou	Balsamo del Perù
Belladonnae folii extractum siccum normatum	(1294)	Belladonna leaf dry extract, standardised	Belladone (feuille de), extrait sec titré de	Belladonna foglia estratto secco titolato
Belladonnae pulvis normatus	(0222)	Belladonna, prepared	Belladone (poudre titrée de)	Belladonna polvere titolata
Cinnamomi cassiae aetheroleum	(1496)	Cassia oil	Cannelier (huile essentielle de)	Cannella di Cina essenza
Cinnamomi zeylanicii corticis aetheroleum	(1501)	Cinnamon bark oil, Ceylon	Cannelle dite de Ceylan (huile essentielle de)	Cannella di Ceylon corteccia essenza
Cocois oleum raffinatum	(1410)	Coconut oil, refined	Coco (huile de) raffinée	Olio di cocco raffinato
Cyamopsidis seminis pulvis	(1218)	Guar	Guar	Guar
Eucalypti aetheroleum	(0390)	Eucalyptus oil	Eucalyptus (huile essentielle d')	Eucalipto essenza
Frangulae corticis extractum siccum normatum	(1214)	Frangula bark dry extract, standardised	Bourdaine (extrait sec titré de)	Frangola estratto secco titolato

Gossypii oleum hydrogenatum	(1305)	Cottonseed oil, hydrogenated	Coton (huile de) hydrogénée	Olio di semi di cotone idrogenato
Guar galactomannanum	(0908)	Guar galactomannan	Guar (galactomannane du)	Guar galattomannano
Helianthi annui oleum raffinatum	(1371)	Sunflower oil, refined	Tournesol (huile de) raffinée	Olio di girasole raffinato
Ipecacuanhae pulvis normatus	(0093)	Ipecacuanha, prepared	Ipécacuanha (poudre titrée d')	Ipecacuana polvere titolata
Lacca	(1149)	Shellac	Gommes laques	Gomma lacca
Liquiritiae extractum fluidum ethanolicum normatum	(1536)	Liquorice ethanolic liquid extract, standardised	Réglisse (extrait fluide éthanologique titré de)	Liquirizia estratto etanolic fluido, titolato
Matricariae extractum fluidum	(1544)	Matricaria liquid extract	Matricaire (extrait fluide de)	Camomilla estratto liquido
Maydis oleum raffinatum	(1342)	Maize oil, refined	Maïs (huile de) raffinée	Olio di mais raffinato
Myristicae fragrantis aetheroleum	(1552)	Nutmeg oil	Noix muscade (huile essentielle de)	Noce moscata essenza
Nitrogenii oxidum	(1550)	Nitric oxide	Azote (monoxyde d')	Azoto monossido
Nitrogenium	(1247)	Nitrogen	Azote	Azoto
Olivae oleum raffinatum	(1456)	Olive oil, refined	Olive (huile d') raffinée	Olio di oliva raffinato
Olivae oleum virginale	(0518)	Olive oil, virgin	Olive (huile d') vierge	Olio di oliva vergine
Oxygenium	(0417)	Oxygen	Oxygène	Ossigeno
Rapae oleum raffinatum	(1369)	Rapeseed oil, refined	Colza (huile de) raffinée	Olio di colza raffinato
Sennae folii extractum siccum normatum	(1261)	Senna leaf dry extract, standardised	Séné (feuille de), extrait sec titré de	Senna foglia estratto secco titolato
Soiae oleum hydrogenatum	(1265)	Soya-bean oil, hydrogenated	Soja (huile de) hydrogénée	Olio di semi di soia idrogenato
Stramonii pulvis normatus	(0247)	Stramonium, prepared	Stramoine (poudre titrée de)	Stramonio polvere titolata
Tragacantha	(0532)	Tragacanth	Gomme adragante	Gomma adragante

TESTI IL CUI TITOLO È STATO MODIFICATO NEL SUPPLEMENTO 6.2

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.9.23.	Gas pycnometric density of solids <i>previously</i> Pycnometric density of solids	Masse volumique des solides par pycnométrie à gaz <i>en remplacement de</i> Densité pycnométrique des solides	Densità dei solidi mediante picnometria a gas <i>in sostituzione di</i> Densità picnometrica dei solidi

MONOGRAFIE

VACCINI PER USO VETERINARIO

n.	Inglese	Francese	Italiano
0065	Swine-fever vaccine (live, prepared in cell cultures), classical <i>previously</i> Swine-fever vaccine (live), classical, freeze-dried	Vaccin vivant de la peste porcine classique préparé sur cultures cellulaires <i>en remplacement de</i> Vaccin vivant cryodesséché de la peste porcine classique	Vaccino vivo della peste suina classica preparato in colture cellulari <i>in sostituzione di</i> Vaccino vivo liofilizzato della peste suina classica

MONOGRAFIE

n.	Inglese	Francese	Italiano
0356	Streptokinase concentrated solution <i>previously</i> Streptokinase bulk solution	Streptokinase (solution concentrée de) <i>en remplacement de</i> Streptokinase (solution en vrac de)	Streptochinasi concentrata <i>in sostituzione di</i> Streptokinasi soluzione "in bulk"

TESTI ELIMINATI

I testi riportati di seguito sono eliminati dalla Farmacopea Europea a partire dal 1 aprile 2008

MONOGRAFIE VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum pertussis	(0160)	Pertussis vaccine	Vaccin coquelucheux	Vaccino per tossico

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Stanozololum	(1568)	Stanozolol	Stanozolol	Stanozololo

**Entrata in vigore dei testi, nelle lingue inglese e francese
pubblicati nel Supplemento 6.3 della Farmacopea Europea**

**IL MINISTRO DEL LAVORO, DELLA SALUTE
E DELLE POLITICHE SOCIALI**

Visto l'art. 124 del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, modificato dalla legge 7 novembre 1942, n. 1528;

Visto il regolamento per il servizio farmaceutico, approvato con regio decreto 30 settembre 1938, n. 1706;

Vista la legge 9 novembre 1961, n. 1242, relativa alla revisione e pubblicazione della Farmacopea Ufficiale;

Vista la legge 22 ottobre 1973, n. 752, relativa alla ratifica ed esecuzione della Convenzione Europea per la elaborazione di una Farmacopea Europea, adottata a Strasburgo il 22 luglio 1964;

Vista la legge 23 dicembre 1978, n. 833, sulla istituzione del Servizio sanitario nazionale;

Visto l'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128 relativa alle disposizioni per l'adempimento di obblighi derivanti dalla appartenenza dell'Italia alla Comunità europea (legge comunitaria 1995-1997);

Vista la risoluzione AP-CSP (07)5 adottata in data 23 marzo 2007 dal Consiglio d'Europa, Comitato di sanità pubblica, con la quale è stata decisa l'entrata in vigore dal 1° gennaio 2009 del Supplemento 6.3 della Farmacopea Europea;

Ritenuto di dover disporre l'entrata in vigore nel territorio nazionale dei testi adottati dalla richiamata risoluzione, come previsto dal citato art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128, nonché di chiarire che i testi nelle lingue inglese e francese di cui al presente provvedimento sono esclusi dall'ambito di applicazione della disposizione contenuta nell'art. 123, primo comma, lettera *b*), del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265;

Visto il decreto ministeriale 15 luglio 2008 (pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* n. 180 del 2 agosto 2008), recante «Delega di attribuzioni del Ministro del lavoro, della salute e delle politiche sociali al Sottosegretario di Stato, prof. Ferruccio Fazio, per taluni atti di competenza dell'Amministrazione»;

Decreta:

Art. 1.

I testi nelle lingue inglese e francese dei capitoli generali e delle monografie pubblicati nel Supplemento 6.3 della Farmacopea Europea, elencati nell'allegato al presente decreto, entrano in vigore nel territorio nazionale, come facenti parte della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana, dal 1° gennaio 2009.

2. I testi nelle lingue inglese e francese richiamati al comma 1 non sono oggetto degli obblighi previsti dall'art. 123, primo comma, lettera *b*), del testo unico delle leggi sanitarie approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265. Gli stessi testi, ai sensi dell'art. 26 della legge 24 aprile 1998, n. 128 sono posti a disposizione di qualunque interessato per consultazione e chiarimenti presso il Segretariato della Commissione permanente per la revisione e la pubblicazione della Farmacopea Ufficiale di cui alla legge 9 novembre 1961, n. 1242.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, 31 ottobre 2008

p. *Il Ministro*
Il Sottosegretario di Stato
Fazio

Allegato 1

CONTENUTO DEL SUPPLEMENTO 6.3 DELLA FARMACOPEA EUROPEA

NUOVI TESTI

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
5.1.9.	Guidelines for using the test for sterility	Indications sur l'application de l'essai de stérilité	Linee guida sull'applicazione del saggio di sterilità

MONOGRAFIE

VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum zonae vivum	(2418)	Shingles (herpes zoster) vaccine (live)	Vaccin vivant du zona	Vaccino vivo dell'herpes zoster

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Natrii calcii pentetas ad radiopharmaceutica	(2353)	Pentetate sodium calcium for radiopharmaceutical preparations	Pentétate (calcium) de sodium pour préparations radiopharmaceutiques	Sodio calcio pentetato per preparazioni radiofarmaceutiche
Technetii (^{99m} Tc) mebrofenini solutio iniectabilis	(2393)	Technetium (^{99m} Tc) mebrofenin injection	Technétium (^{99m} Tc) (mébrofénine-), solution injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) mebrofenina soluzione iniettabile
Tetra-O-acetylmannosi triflas ad radiopharmaceutica	(2294)	Tetra-O-acetyl-mannose triflate for radiopharmaceutical preparations	Tétra-O-acétyl-mannose (triflate de) pour préparations radiopharmaceutiques	Tetra-O-acetil-mannosio triflato per preparazioni radiofarmaceutiche

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Alumini natrii silicas	(1676)	Aluminium sodium silicate	Aluminium (silicate d') et de sodium	Alluminio sodio silicato
Cynarae folii extractum siccum	(2389)	Artichoke leaf dry extract	Artichaut (feuille d'), extrait sec de	Carciofo foglia estratto secco
Benazeprili hydrochloridum	(2388)	Benazepril hydrochloride	Bénazépril (chlorhydrate de)	Benazepril cloridrato
Calcii gluconas anhydricus	(2364)	Calcium gluconate, anhydrous	Calcium (gluconate de) anhydre	Calcio gluconato anidro
Citaloprami hydrobromidum	(2288)	Citalopram hydrobromide	Citalopram (bromhydrate de)	Citalopram bromidrato
Citaloprami hydrochloridum	(2203)	Citalopram hydrochloride	Citalopram (chlorhydrate de)	Citalopram cloridrato
Iecoris aselli domestici oleum	(2398)	Cod-liver oil, farmed	Foie de morue d'élevage (huile de)	Olio di fegato di merluzzo di allevamento
Dydrogesteronum	(2357)	Dydrogesterone	Dydrogestérone	Didrogesterone
Esomeprazolom magnesticum trihydricum	(2372)	Esomeprazole magnesium trihydrate	Ésoméprazole magnésique trihydraté	Esomeprazolo magnesio triidrato
Filgrastimi solutio concentrata	(2206)	Filgrastim concentrated solution	Filgrastim (solution concentrée de)	Filgrastim soluzione concentrata
Interferoni beta-1a solutio concentrata	(1639)	Interferon beta-1a concentrated solution	Interféron bêta-1a (solution concentrée d')	Interferone beta-1a soluzione concentrata
Lamotriginum	(1756)	Lamotrigine	Lamotrigine	Lamotrigina
Lauromacrogolum 400	(2046)	Lauromacrogol 400	Lauromacrogol 400	Lauromacrogol 400
Malvae folium	(2391)	Mallow leaf	Mauve (feuille de)	Malva foglia (sostituisce la monografia nazionale della FU XII ed.)
Meloxicamum	(2373)	Meloxicam	Méloxicam	Meloxicam

Methylphenidati hydrochloridum	(2235)	Methylphenidate hydrochloride	Méthylphénidate (chlorhydrate de)	Metilfenidato cloridrato
Omeprazolium magnesicum	(2374)	Omeprazole magnesium	Oméprazole magnésique	Omeprezolo magnesio
Pisi amyllum	(2403)	Pea starch	Amidon de pois	Amido di pisello
Saquinaviri mesilas	(2267)	Saquinavir mesilate	Saquinavir (mésilate de)	Saquinavir mesilato
Schisandrae chinensis fructus	(2428)	Schisandra fruit	Schisandra de Chine (fruit de)	Schisandra di Cina frutto
Sevofluranum	(2269)	Sevoflurane	Sévoflurane	Sevoflurano
Teicoplaninum	(2358)	Teicoplanin	Téicoplanine	Teicoplanina

TESTI REVISIONATI CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.2.33.	Nuclear magnetic resonance spectrometry	Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire	Spettrometria di risonanza magnetica nucleare
2.2.42.	Density of solids	Masse volumique d'un solide (improprement appelée densité d'un solide)	Densità dei solidi
2.5.24.	Carbon dioxide in gases	Dioxyde de carbone dans les gaz	Carbonio diossido nei gas
2.5.25.	Carbon monoxide in gases	Monoxyde de carbone dans les gaz	Carbonio monossido nei gas
2.5.27.	Oxygen in gases	Oxygène dans les gaz	Ossigeno nei gas
2.6.1.	Sterilità	Stérilité	Sterilità
2.6.12.	Microbiological examination of non-sterile products: microbial enumeration tests	Contrôle microbiologique des produits non stériles: essais de dénombrement microbien	Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggi di conta microbica
2.6.13.	Microbiological examination of non-sterile products: test for specified micro-organisms	Contrôle microbiologique des produits non stériles: recherche de microorganismes spécifiés	Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggio per i microrganismi specificati
2.7.2.	Microbiological assay of antibiotics	Titrage microbiologique des antibiotiques	Dosaggio microbiologico degli antibiotici
2.9.1.	Disintegration of tablets and capsules	Désagrégation des comprimés et des capsules	Disaggregazione delle compresse e delle capsule
2.9.33.	Characterisation of crystalline and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction (XRPD)	Caractérisation des solides cristallins et partiellement cristallins par diffraction X sur poudre	Caratterizzazione dei solidi cristallini e parzialmente cristallini mediante diffrazione dei raggi X sulla polvere (DRXP)
4.	Reagents (<i>new, revised, corrected</i>)	Réactifs, solutions et substances étalons (<i>nouveaux, révisés, corrigés</i>)	Reattivi (<i>nuovi, revisionati, corretti</i>)
5.1.4.	Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use	Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stériles	Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche e delle sostanze per uso farmaceutico non sterili
5.1.5.	Application of the F_0 concept to steam sterilisation of aqueous preparations	Application du concept F_0 à la stérilisation par la vapeur des préparations aqueuses	Applicazione del concetto F_0 alla sterilizzazione mediante vapore delle preparazioni acquose
5.2.3.	Cell substrates for the production of vaccines for human use	Substrats cellulaires utilisés pour la production de vaccins pour usage humain	Substrati cellulari utilizzati per la produzione di vaccini per uso umano

MONOGRAFIE MONOGRAFIE GENERALI

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Corpora ad usum pharmaceuticum	(2034)	Substances for pharmaceutical use	Substances pour usage pharmaceutique	Sostanze per uso farmaceutico
Vaccina ad usum humanum	(0153)	Vaccines for human use	Vaccins pour usage humain	Vaccini per uso umano

FORME FARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Præparaciones molles ad usum dermicum	(0132)	Semi-solid preparations for cutaneous application	Préparations semi-solides pour application cutanée	Preparazioni semisolide per applicazione cutanea
Pulveres ad usum dermicum	(1166)	Powders for cutaneous application	Poudres pour application cutanée	Polveri per applicazione cutanea

VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
BCG ad immunocurationem	(1929)	BCG for immunotherapy	BCG pour immunothérapie	BCG per immunoterapia
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis sine cellulis ex elementis præparatum, poliomyelitis inactivatum et haemophili stirpe b coniugatum adsorbatum	(2065)	Diphtheria, tetanus, pertussis (acellular, component), poliomyelitis (inactivated) and haemophilus type b conjugate vaccine (adsorbed)	Vaccin diphtérique, tétanique, coquelucheux (acellulaire, multicomposé), poliomyélique (inactivé) et conjugué de l'haemophilus type b, adsorbé	Vaccino difterico, tetanico, pertossico (acellulare, multicomposto), della poliomielite (inattivato) e dell'emofilo tipo b coniugato, adsorbito
Vaccinum haemophili stirpe b coniugatum	(1219)	Haemophilus type b conjugate vaccine	Vaccin conjugué de l'haemophilus type b	Vaccino coniugato dell'emofilo tipo b
Vaccinum poliomyelitis inactivatum	(0214)	Poliomyelitis vaccine (inactivated)	Vaccin poliomyélique inactivé	Vaccino inattivato poliomieltico
Vaccinum varicellae vivum	(0648)	Varicella vaccine (live)	Vaccin varicelleux vivant	Vaccino vivo della varicella

PREPARAZIONI RADIOFARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Rhenii sulfidi colloidalis et technetii (^{99m} Tc) solutio iniectionabilis	(0126)	Technetium (^{99m} Tc) colloidal rhenium sulphide injection	Technétium (^{99m} Tc) (sulfure de rhénium colloidal et de), solution injectable de	Renio solfuro colloidale e tecnezio (^{99m} Tc) preparazione iniettabile
Stanni pyrophosphatis et technetii (^{99m} Tc) solutio iniectionabilis	(0129)	Technetium (^{99m} Tc) tin pyrophosphate injection	Technétium (^{99m} Tc) (pyrophosphate d'étain et de), solution injectable de	Stagno pirofosfato e tecnezio (^{99m} Tc) preparazione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) macrosalbi suspensio iniectionabilis	(0296)	Technetium (^{99m} Tc) macrosalb injection	Technétium (^{99m} Tc) (macrosalb-), suspension injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) macrosalb sospensione iniettabile
Technetii (^{99m} Tc) microsphaerarum suspensio iniectionabilis	(0570)	Technetium (^{99m} Tc) microspheres injection	Technétium (^{99m} Tc) (microsphères-), suspension injectable de	Tecnezio (^{99m} Tc) microfere sospensione iniettabile

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acaciae gummi	(0307)	Acacia	Gomme arabique	Gomma arabica
Acaciae gummi dispersione desiccatum	(0308)	Acacia, spray-dried	Gomme arabique (nébulisat de)	Gomma arabica, liofilizzato
N-Acetyltryptophanum	(1383)	N-Acetyltryptophan	N-Acétyltryptophane	N-Acetiltryptofano
Acidi methacrylici et ethylis acrylas polymerisati 1:1 dispersio 30 per centum	(1129)	Methacrylic acid – ethyl acrylate copolymer (1:1) dispersion 30 per cent	Copolymère d'acide méthacrylique et d'acrylate d'éthyle (1:1) (dispersion de) à 30 pour cent	Acido metacrilico – etile acrilato copolimero (1:1) dispersione 30 per cento
Acidum alginicum	(0591)	Alginic acid	Alginique (acide)	Acido alginico
Acidum ascorbicum	(0253)	Ascorbic acid	Ascorbique (acide)	Acido ascorbico
Acidum mefenamicum	(1240)	Mefenamic acid	Méfénamique (acide)	Acido mefenamico
Adenosinum	(1486)	Adenosine	Adénosine	Adenosina
Adeps solidus	(0462)	Hard fat	Glycérides hémi-synthétiques solides	Gliceridi semisintetici solidi
Aer medicinalis	(1238)	Air, medicinal	Air médicinal	Aria medicinale
Agar	(0310)	Agar	Agar-agar	Agar

Almagatum	(2010)	Almagate	Almagate	Allagato
Aluminii magnesi silicas	(1388)	Aluminium magnesium silicate	Aluminium (silicate d') et de magnésium	Alluminio magnesio silicato
Aluminii oxidum hydricum	(0311)	Aluminium oxide, hydrated	Aluminium (oxyde d') hydraté	Alluminio ossido idrato
Aluminii phosphatis liquamen	(2166)	Aluminium phosphate gel	Aluminium (phosphate d'), gel de	Alluminio fosfato gel
Amphotericinum B	(1292)	Amphotericin B	Amphotéricine B	Amfotericina B
Amylum pregelificatum	(1267)	Starch, pregelatinised	Amidon prégélatinisé	Amido pregelatinizzato
Aprotinini solutio concentrata	(0579)	Aprotinin concentrated solution	Aprotinine (solution concentrée d')	Aprotinina soluzione concentrata
Aprotinum	(0580)	Aprotinin	Aprotinine	Aprotinina
Aqua ad dilutionem solutionium concentratarum ad haemodialysim	(1167)	Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting	Solutions concentrées pour hémodialyse (eau pour dilution des)	Acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi
Aqua ad iniectabilia	(0169)	Water for injections	Eau pour préparations injectables	Acqua per preparazioni iniettabili
Aqua purificata	(0008)	Water, purified	Eau purifiée	Acqua depurata
Aqua valde purificata	(1927)	Water, highly purified	Eau hautement purifiée	Acqua altamente depurata
Aurantii amari epicarpium et mesocarpium	(1603)	Bitter-orange epicarp and mesocarp	Orange amère (épicarpe et mésocarpe d')	Arancia amara epicarpo e mesocarpo
Aurantii amari flos	(1810)	Bitter-orange flower	Oranger amer (fleur d')	Arancio amaro fiore
Beclometasoni dipropionas anhydricus	(0654)	Beclometasone dipropionate, anhydrous	Béclométasone (dipropionate de) anhydre	Beclometasone dipropionato anidro
Beclometasoni dipropionas monohydricus	(1709)	Beclometasone dipropionate monohydrate	Béclométasone (dipropionate de) monohydraté	Beclometasone dipropionato monoidrato
Belladonnae folii extractum siccum normatum	(1294)	Belladonna leaf dry extract, standardised	Belladone (feuille de), extrait sec titré de	Belladonna foglia estratto secco titolato
Bentonitum	(0467)	Bentonite	Bentonite	Bentonite
Betamethasoni valeras	(0811)	Betamethasone valerate	Bétaméthasone (valérate de)	Betametasono valerato
Calcii folinas	(0978)	Calcium folinate	Calcium (folinate de)	Calcio folinato
Calcii gluconas	(0172)	Calcium gluconate	Calcium (gluconate de)	Calcio gluconato
Calcii gluconas ad iniectabile	(0979)	Calcium gluconate for injection	Calcium (gluconate de) pour solution injectable	Calcio gluconato per preparazione iniettabile
Calcii stearas	(0882)	Calcium stearate	Calcium (stéarate de)	Calcio stearato
Carbo activatus	(0313)	Charcoal, activated	Charbon activé	Carbone attivato
Carmellosum natricum conexum	(0985)	Croscarmellose sodium	Croscarmellose sodique	Croscarmellosa sodica
Cellulosi acetatas	(0887)	Cellulose acetate	Cellulose (acétate de)	Cellulosa acetato
Cellulosi acetatas phthalas	(0314)	Cellulose acetate phthalate	Cellulose (acétate phthalate de)	Cellulosa acetato ftalato
Cellulosi pulvis	(0315)	Cellulose, powdered	Cellulose en poudre	Cellulosa polvere
Cellulosum microcrystallinum	(0316)	Cellulose, microcrystalline	Cellulose microcristalline	Cellulosa microcristallina
Chondroitini natrii sulfas	(2064)	Chondroitin sulphate sodium	Chondroïtine (sulfate sodique de)	Chondroitin solfato sodico
Cisplatinum	(0599)	Cisplatin	Cisplatine	Cisplatino
Crospovidonum	(0892)	Crospovidone	Crospovidone	Crospovidone
Cyamopsidis seminis pulvis	(1218)	Guar	Guar	Guar
Dextranum 1 ad iniectabile	(1506)	Dextran 1 for injection	Dextran 1 pour préparations injectables	Destrano 1 per preparazione iniettabile
Dextranum 40 ad iniectabile	(0999)	Dextran 40 for injection	Dextran 40 pour préparations injectables	Destrano 40 per preparazione iniettabile

Dextranum 60 ad iniectabile	(1000)	Dextran 60 for injection	Dextran 60 pour préparations injectables	Destrano 60 per preparazione iniettabile
Dextranum 70 ad iniectabile	(1001)	Dextran 70 for injection	Dextran 70 pour préparations injectables	Destrano 70 per preparazione iniettabile
Erythritolum	(1803)	Erythritol	Érythritol	Eritritolo
Ferrosi gluconas	(0493)	Ferrous gluconate	Gluconate ferreux	Ferroso gluconato
Frangulae corticis extractum siccum normatum	(1214)	Frangula bark dry extract, standardised	Bourdaïne (extrait sec titré de)	Frangola estratto secco, titolato
Galactosum	(1215)	Galactose	Galactose	Galattosio
Gelatina	(0330)	Gelatin	Gélatine	Gelatina
Glucosum liquidum dispersione desiccatum	(1525)	Glucose, liquid, spray-dried	Glucose liquide (nébulisé de)	Glucosio liquido, nebulizzato essiccato
Guar galactomannanum	(0908)	Guar galactomannan	Guar (galactomannane du)	Guar galattomannano
Hydroxypropylbetadexum	(1804)	Hydroxypropylbetadex	Hydroxypropylbétadex	Idrossipropilbetadex
Iecoris aselli oleum A	(1192)	Cod-liver oil (type A)	Foie de morue (huile de) (type A)	Olio di fegato di merluzzo (tipo A)
Iecoris aselli oleum B	(1193)	Cod-liver oil (type B)	Foie de morue (huile de) (type B)	Olio di fegato di merluzzo (tipo B)
Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum	(0918)	Human normal immunoglobulin for intravenous administration	Immunoglobuline humaine normale pour administration par voie intraveineuse	Immunoglobulina umana normale per uso endovenoso
Kalii citras	(0400)	Potassium citrate	Potassium (citrate de)	Potassio citrato
Kaolinum ponderosum	(0503)	Kaolin, heavy	Kaolin lourd	Caolino pesante
Lactitolum monohydricum	(1337)	Lactitol monohydrate	Lactitol monohydraté	Lattitolo monoidrato
Lactosum anhydricum	(1061)	Lactose, anhydrous	Lactose anhydre	Lattosio anidro
Lactosum monohydricum	(0187)	Lactose monohydrate	Lactose monohydraté	Lattosio monoidrato
Lactulosum	(1230)	Lactulose	Lactulose	Lattulosio
Lactulosum liquidum	(0924)	Lactulose, liquid	Lactulose liquide	Lattulosio liquido
Levodropropizinium	(1535)	Levodropropizine	Lévodropropizine	Levodropropizina
Lynestrenolum	(0558)	Lynestrenol	Lynestrénol	Linestrenolo
Magnesium oxidum leve	(0040)	Magnesium oxide, light	Magnésium (oxyde de) léger	Magnesio ossido leggero
Magnesium oxidum ponderosum	(0041)	Magnesium oxide, heavy	Magnésium (oxyde de) lourd	Magnesio ossido pesante
Magnesium stearas	(0229)	Magnesium stearate	Magnésium (stéarate de)	Magnesio stearato
Magnesium subcarbonas levis	(0042)	Magnesium carbonate, light	Magnésium (carbonate de) léger	Magnesio carbonato leggero
Maltitolum	(1235)	Maltitol	Maltitol	Maltitolo
Maltodextrinum	(1542)	Maltodextrin	Maltodextrine	Maltodestrina
Mannitolum	(0559)	Mannitol	Mannitol	Mannitolo
Maydis amyllum	(0344)	Maize starch	Amidon de maïs	Amido di mais
Methotrexatum	(0560)	Methotrexate	Méthotrexate	Metotrexato
Mianserini hydrochloridum	(0846)	Mianserin hydrochloride	Miansérine (chlorhydrate de)	Mianserina cloridrato
Naphazolini hydrochloridum	(0730)	Naphazoline hydrochloride	Naphazoline (chlorhydrate de)	Nafazolina cloridrato
Natrii alginas	(0625)	Sodium alginate	Sodium (alginate de)	Sodio alginato
Natrii ascorbas	(1791)	Sodium ascorbate	Ascorbate sodique	Sodio ascorbato
Natrii glycerophosphas hydricus	(1995)	Sodium glycerophosphate, hydrated	Sodium (glycérphosphate de) hydraté	Sodio glicerofosfato idrato
Natrii hyaluronas	(1472)	Sodium hyaluronate	Sodium (hyaluronate de)	Sodio ialuronato
Natrii polystyrenesulfonas	(1909)	Sodium polystyrene sulphonate	Sodium (polystyrène sulfonate de)	Sodio polistirene sulfonato
Natrii stearas	(2058)	Sodium stearate	Sodium (stéarate de)	Sodio stearato (<i>sostituisce la monografia nazionale della FU XII ed.</i>)
Nicotini resinas	(1792)	Nicotine resinate	Nicotine (resinate de)	Nicotina resinato (Complesso nicotina-resina cationica)
Nicotinum	(1452)	Nicotine	Nicotine	Nicotina
Oleae folium	(1878)	Olive leaf	Olivier (feuille d')	Olivo foglia

Omega-3 acidorum esteri ethylici 60	(2063)	Omega-3-acid ethyl esters 60	Oméga-3 (esters éthyliques 60 d'acides)	Acidi omega-3 esteri etilici 60
Omega-3 acidorum esteri ethylici 90	(1250)	Omega-3-acid ethyl esters 90	Oméga-3 (esters éthyliques 90 d'acides)	Acidi omega-3 esteri etilici 90
Omega-3 acidorum triglycerida	(1352)	Omega-3-acid triglycerides	Oméga-3 (triglycérides d'acides)	Acidi omega-3 trigliceridi
Oryzae amyllum	(0349)	Rice starci	Amidon de riz	Amido di riso
Oxaliplatinum	(2017)	Oxaliplatin	Oxaliplatine	Oxaliplatino
Oxymetazolini hydrochloridum	(0943)	Oxymetazoline hydrochloride	Oxymétazoline (chlorhydrate d')	Oximetazolina cloridrato
Paclitaxelum	(1794)	Paclitaxel	Paclitaxel	Paclitaxel
Pancreatis pulvis	(0350)	Pancreas powder	Pancréas (poudre de)	Pancreas polvere
Pepsini pulvis	(0682)	Pepsin powder	Pepsine (poudre de)	Pepsina polvere
Perphenazinum	(0629)	Perphenazine	Perphénazine	Perfenazina
Plasma humanum coag-mentatum conditumque ad exstinguendum virum	(1646)	Human plasma (pooled and treated for virus inactivation)	Plasma humain (mélange de) traité pour viro-inactivation	Plasma umano (raccolto e trattato per inattivare i virus)
Poly(vinylis acetate) dispersio 30 per centum	(2152)	Poly(vinyl acetate) dispersion 30 per cent	Poly(acétate de vinyle) (dispersion de) à 30 pour cent	Polivinile acetato dispersione 30 per cento
Polyacrylatis dispersio 30 per centum	(0733)	Polyacrylate dispersion 30 per cent	Polyacrylate (dispersion de) à 30 pour cent	Poliacrilato dispersione 30 per cento
Pravastatinum natricum	(2059)	Pravastatin sodium	Pravastatine sodique	Pravastatina sodica
Sacchari sphaerae	(1570)	Sugar spheres	Sphères de sucre	Zucchero sfere
Saccharum	(0204)	Sucrose	Saccharose	Saccarosio
Sennae folii extractum siccum normatum	(1261)	Senna leaf dry extract, standardised	Séné (feuille de), extrait sec titré de	Senna foglia estratto secco titolato
Solani amyllum	(0355)	Potato starch	Amidon de pomme de terre	Amido di patata
Sorbitolum	(0435)	Sorbitol	Sorbitol	Sorbitolo
Sorbitolum liquidum partim deshydratum	(2048)	Sorbitol, liquid, partially dehydrated	Sorbitol liquide partiellement déshydraté	Sorbitolo liquido parzialmente disidratato
Sumatriptani succinas	(1573)	Sumatriptan succinate	Sumatriptan (succinate de)	Sumatriptan succinato
Talcum	(0438)	Talc	Talc	Talco
Tetracosactidum	(0644)	Tetracosactide	Tétracosactide	Tetracosactide
Tragacantha	(0532)	Tragacanth	Gomme adragante	Gomma adragante
Tributylis acetylcitras	(1770)	Tributyl acetyl citrate	Tributyle (acétylcitrate de)	Tributile acetile citrato
Tritici amyllum	(0359)	Wheat starch	Amidon de blé	Amido di frumento
Trypsinum	(0694)	Trypsin	trypsine	Tripsina
Tryptophanum	(1272)	Tryptophan	Tryptophane	Triptofano
Xanthani gummi	(1277)	Xanthan gum	Gomme xanthane	Gomma xantana
Xylitolum	(1381)	Xylitol	Xylitol	Xilitolo

TESTI CORRETTI

MONOGRAFIE FORME FARMACEUTICHE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Praeparationes intrauterinae ad usum veterinarium	(1806)	Intrauterine preparations for veterinary use	Préparations intra-utérines pour usage vétérinaire	Preparazioni intrauterine per uso veterinario

VACCINI PER USO VETERINARIO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum clostridii chauvoei ad usum veterinarium	(0361)	Clostridium chauvoei vaccine for veterinary use	Vaccin de clostridium chauvoei pour usage vétérinaire	Vaccino da Clostridium chauvoei per uso veterinario

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Acemetacinum	(1686)	Acemetacin	Acémétacine	Acemetacina
Amiodaroni hydrochloridum	(0803)	Amiodarone hydrochloride	Amiodarone (chlorhydrate d')	Amiodarone cloridrato
Amitriptylini hydrochloridum	(0464)	Amitriptyline hydrochloride	Amitriptyline (chlorhydrate d')	Amitriptilina cloridrato
Arnicae flos	(1391)	Arnica flower	Arnica (fleur d')	Arnica fiore
Arnicae tinctura	(1809)	Arnica tincture	Arnica (teinture d')	Arnica tintura
Atropini sulfas	(0068)	Atropine sulphate	Atropine (sulfate d')	Atropina solfato
Atropinum	(2056)	Atropine	Atropine	Atropina
Azithromycinum	(1649)	Azithromycin	Azithromycine	Azitromicina
Buserelinum	(1077)	Buserelin	Buséreline	Buserelina
Carprofenum ad usum veterinarium	(2201)	Carprofen for veterinary use	Carprofène pour usage vétérinaire	Carprofene per uso veterinario
Cellulae stirpes haematopoieticae humanae	(2323)	Human haematopoietic stem cells	Cellules souches hématopoïétiques humaines	Cellule staminali ematopoietiche umane
Cholecalciferoli pulvis	(0574)	Cholecalciferol concentrate (powder form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme pulvérulente	Colecalciferolo concentrato polvere
Cholecalciferolum densatum oleosum	(0575)	Cholecalciferol concentrate (oily form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme huileuse	Colecalciferolo concentrato oleoso
Cholecalciferolum in aqua disperdibile	(0598)	Cholecalciferol concentrate (water-dispersible form)	Cholécalciférol (concentrat de), forme hydrodispersibile	Colecalciferolo concentrato idrodispersibile
Clonidini hydrochloridum	(0477)	Clonidine hydrochloride	Clonidine (chlorhydrate de)	Clonidina cloridrato
Codergocriini mesilas	(2060)	Codergocrine mesilate	Codergocrine (mésilate de)	Codergocrina mesilato
Dexamethasoni acetat	(0548)	Dexamethasone acetate	Dexaméthasone (acétate de)	Desametasone acetato
Dinatrii phosphas anhydricus	(1509)	Disodium phosphate, anhydrous	Phosphate disodique anhydre	Sodio fosfato dibasico anidro
Ergocalciferolum	(0082)	Ergocalciferol	Ergocalciférol	Ergocalciferolo
Ethacridini lactas monohydricus	(1591)	Ethacridine lactate monohydrate	Éthacridine (lactate d') monohydraté	Etacridina lattato monoidrato
Fluvoxamini maleas	(1977)	Fluvoxamine maleate	Fluvoxamine (maléate de)	Fluvoxamina maleato
Glucosum anhydricum	(0177)	Glucose, anhydrous	Glucose anhydre	Glucosio anidro
Glucosum monohydricum	(0178)	Glucose monohydrate	Glucose monohydraté	Glucosio monoidrato
Glyceroli mono-oleas	(1430)	Glycerol mono-oleate	Glycérol (mono-oléate de)	Glicerolo mono-oleato
Granisetroni hydrochloridum	(1695)	Granisetron hydrochloride	Granisétron (chlorhydrate de)	Granisetron cloridrato
Hyperici herba	(1874)	St. John's wort dry extract, quantified	Millepertuis (extrait sec quantifié de)	Iperico estratto secco, quantificato
Hypromellosi phthalas	(0347)	Hypromellose phthalate	Hypromellose (phtalate d')	Ipromellosa ftalato
Hypromellosum	(0348)	Hypromellose	Hypromellose	Ipromellosa
Ichthammolum	(0917)	Ichthammol	Ichthammol	Ictammolo
Kalii dihydrogenophosphas	(0920)	Potassium dihydrogen phosphate	Phosphate monopotassique	Potassio fosfato monobasico
Macrogoli 40 sorbitoli heptaoleas	(2396)	Macrogol 40 sorbitol heptaoleate	Macrogol 40 sorbitol (heptaoléate de)	Macrogol 40 sorbitolo eptaoleato
Magaldratum	(1539)	Magaldrate	Magaldrate	Magaldrato
Methylcellulosum	(0345)	Methylcellulose	Méthylcellulose	Metilcellulosa
Methyltestosteronum	(0410)	Methyltestosterone	Méthyltestostérone	Metiltestosterone
Moxidectium ad usum veterinarium	(1656)	Moxidectin for veterinary use	Moxidectine pour usage vétérinaire	Moxidectina per uso veterinario
Natrii alendronas	(1564)	Sodium alendronate	Sodium (alendronate de)	Sodio alendronato
Natrii molybdas dihydricus	(1565)	Sodium molybdate dihydrate	Sodium (molybdate de) dihydraté	Sodio molibdato diidrato
Phenolum	(0631)	Phenol	Phénol	Fenolo
Pholcodinum	(0522)	Pholcodine	Pholcodine	Folcodina
Pilocarpini hydrochloridum	(0633)	Pilocarpine hydrochloride	Pilocarpine (chlorhydrate de)	Pilocarpina cloridrato

Pilocarpini nitras	(0104)	Pilocarpine nitrate	Pilocarpine (nitrate de)	Pilocarpina nitrato
Polysorbatum 20	(0426)	Polysorbate 20	Polysorbate 20	Polisorbato 20
Polysorbatum 40	(1914)	Polysorbate 40	Polysorbate 40	Polisorbato 40
Polysorbatum 60	(0427)	Polysorbate 60	Polysorbate 60	Polisorbato 60
Polysorbatum 80	(0428)	Polysorbate 80	Polysorbate 80	Polisorbato 80
Racecadrotrilum	(2171)	Racecadotril	Racécadotril	Racecadotril
Sertralini hydrochloridum	(1705)	Sertraline hydrochloride	Sertraline (chlorhydrate de)	Sertralina cloridrato
Sesami oleum raffinatum	(0433)	Sesame oil, refined	Sésame (huile de) raffinée	Olio di sesamo raffinato
Sultamicillini tosilas dihydricus	(2212)	Sultamicillin tosilate dihydrate	Sultamicilline (tosilate de) dihydraté	Sultamicillina tosilato diidrato
Telmisartanum	(2154)	Telmisartan	Telmisartan	Telmisartan
Triamterenum	(0058)	Triamterene	Triamterène	Triamterene
Verbenae citriodoratae folium	(1834)	Lemon verbena leaf	Verveine odorante (feuille de)	Verbena odorosa foglia

TESTI IL CUI TITOLO È STATO MODIFICATO NEL SUPPLEMENTO 6.3

CAPITOLI GENERALI

n.	Inglese	Francese	Italiano
2.6.12.	Microbiological examination of non-sterile products: microbial enumeration tests <i>previously</i>	Contrôle microbiologique des produits non stériles: essais de dénombrement microbien <i>en remplacement de</i>	Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggi di conta microbica <i>in sostituzione di</i>
	Microbiological examination of non-sterile products: total viable aerobic count	Contrôle microbiologique des produits non stériles: dénombrement des germes aérobies viables totaux)	Contaminazione microbica dei prodotti non obbligatoriamente sterili: conta totale dei microrganismi aerobi vivi
5.1.4.	Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use <i>previously</i>	Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stériles <i>en remplacement de</i>	Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche e delle sostanze per uso farmaceutico non sterili <i>in sostituzione di</i>
	Microbiological quality of pharmaceutical preparations	Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques	Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche

TESTI ELIMINATI

I testi riportati di seguito sono eliminati dalla Farmacopea Europea a partire dal 1 aprile 2008

MONOGRAFIE VACCINI PER USO UMANO

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Vaccinum pertussis	(0160)	Pertussis vaccine	Vaccin coquelucheux	Vaccino pertossico

TESTI RE-INSERITI

Il testo riportato di seguito è stato eliminato dal 1 aprile 2008 ma è stato reintrodotta invariato nel presente Supplemento. Questo testo deve essere preso in considerazione dalla data di pubblicazione del Supplemento 6.3 (10 giugno 2008).

MONOGRAFIE

Titoli in latino	No.	Titoli in inglese	Titoli in francese	Titoli in italiano
Stanozololum	(1568)	Stanozolol	Stanozolol	Stanozololo

INDICE

A

- Abbreviazioni e simboli, (1.1.5), 11
 Acidi nucleici nei vaccini polisaccaridici, (2.5.17), 176
 Acidi uronici nei vaccini polisaccaridici, (2.5.22), 178
 Acido 2-Etilsesanoico, (2.4.28), 159
 Acido acetico nei peptidi sintetici, (2.5.34), 189
 Acido acetilsalicilico compresse gastroresistenti, 1021
 Acido acetilsalicilico compresse, 1021
 Acido acetilsalicilico e codeina fosfato compresse, 1022
 Acido ascorbico compresse, 1023
 Acido borico bagno oculare, 1024
 Acido borico soluzione cutanea, 1024
 Acido borico unguento, 1025
 Acido deidrocolico, 945
 Acido etacrinico compresse, 1025
 Acido lattico ovuli, 1026
 Acido nalidixico compresse, 1027
 Acido nalidixico sciroppo, 1027
Acido salicilico composto soluzione idroalcolica, 1030
 Acido salicilico e resorcinolo soluzione cutanea, 1030
 Acido salicilico soluzione cutanea oleosa, 1029
 Acido salicilico soluzione cutanea, 1028
Acido salicilico soluzione idroalcolica, 1028
 Acido salicilico unguento, 1029
 Acido sialico nei vaccini polisaccaridici, (2.5.23), 178
 Acido tricloroacetico soluzione cutanea, 1030
Acidum dehydrocholicum, 945
 Acqua altamente depurata, 946
Acqua borica, 1024
Acqua depurata in grande volume, 949
 Acqua depurata, 949
Acqua di calce, 1070
 Acqua nei gas, (2.5.28), 181
 Acqua nelle essenze, (2.8.5), 324
 Acqua per diluizione delle soluzioni concentrate per emodialisi, 952
 Acqua per preparazioni iniettabili, 955
Actapulgitum activatum, 965
 Additivi per plastica, (3.1.13), 484
 Adrenalina collirio soluzione, 1030
Adrenalina fiale, 1031
 Adrenalina preparazione iniettabile, 1031
Aesculi semen, 984
Aetherolea, 834
Alcool mentolato composto, 1210
 Alcool saponato soluzione cutanea, 1032
 Alcoli di lanolina crema e unguento base, 1033
 Allevamenti di polli esenti da patogeni specificati per la produzione e il controllo di qualità dei vaccini, (5.2.2), 710
 Allopurinolo compresse, 1033
 Allume composto polvere per soluzione cutanea, 1034
 Alluminio nei vaccini adsorbiti, (2.5.13), 175
 Alluminio ossido idrato compresse masticabili, 1034
 Alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato compresse masticabili, 1035
 Alluminio ossido idrato e magnesio trisilicato polvere per sospensione orale, 1036
 Alluminio, (2.4.17), 143
 Aloperidolo compresse, 1037
 Aloperidolo preparazione iniettabile, 1038
 Altre disposizioni relative ai capitoli generali e monografie, (1.1.2), 6
Amido glicerolato, 1172
 Aminofenazone, 960
Aminofillina compresse rivestite, 1306
Aminofillina fiale, 1307
Aminofillina supposte, 1308
Aminophenazonum, 960
 Aminosidina solfato, 961
Aminosidinum sulfuricum, 961
 Amitriptilina compresse rivestite, 1038
 Ammonio cloruro concentrato sterile, 1039
Ammonio cloruro soluzione da diluire, 1039
 Ammonio, (2.4.1), 135
 Amoxicillina capsule, 1040
 Amoxicillina compresse, 1041
 Amoxicillina granulato per sospensione orale, 1043
 Ampicillina capsule, 1045
Ampicillina sodica polvere sterile per preparazioni iniettabili, 1047
 Ampicillina sodica preparazione iniettabile, 1047
 Analisi delle dimensioni delle particelle mediante diffrazione della luce laser, (2.9.31), 402
 Analisi termica, (2.2.34), 75
 Analisi volumetriche, (4.2), 664
 Anfifila crema base, 1049
 Antazolina e nafazolina collirio soluzione, 1049
Antazolina e nafazolina soluzione oftalmica, 1049

Antazolina solfato, 962
Antazolini sulfas, 962
Anticorpi monoclonali per uso umano, 827
Anticorpora monoclonalia ad usum humanum, 827
Antiscottature unguento, 1070
Apparati tubolari per la trasfusione di sangue e sue frazioni, (3.2.6), 512
Apparecchiature, (2.1), 23
Applicazione del concetto F₀ alla sterilizzazione mediante vapore delle preparazioni acquose, (5.1.5), 685
Aqua ad dilutionem solutionum concentratarum ad haemodialysim, 952
Aqua ad iniectabilia, 955
Aqua purificata, 949
Aqua valde purificata, 946
Arancia amara essenza, 963
Area superficiale specifica median-te adsorbimento di gas, (2.9.26), 395
Area superficiale specifica per permeabilità all'aria, (2.9.14), 364
Argento nitrato collirio soluzione, 1050
Argento nitrato matita cutanea, 1051
Argento nitrato soluzione oftalmica, 1050
Argento proteinato gocce nasali, 1051
Argento proteinato, 965
Argentum proteicum, 965
Argomenti generali sui prodotti biologici, (5.2), 709
Argomenti generali sulla microbiologia, (5.1), 677
Armonizzazione delle Farmacopee, (5.8), 777
Arsenico, (2.4.2), 135
Atropina collirio soluzione, 1052
Atropina compresse, 1052
Atropina preparazione iniettabile, 1053
Atropina preparazione oftalmica semisolido, 1054
Atropina solfato pomata oftalmica, 1054
Atropina solfato soluzione oftalmica, 1052
Attapulgate attivata, 965

Attivatore della precallicreina, (2.6.15), 234
Attività anticomplementare dell'immunoglobulina, (2.6.17), 237
Aurantii amari epicarpi aetheroleum, 963
Auricularia, 900
Azoto monossido e azoto diossido nei gas, (2.5.26), 180
Azoto protossido nei gas, (2.5.35), 189

B

Bacitracina e polimixina B solfato pomata oftalmica, 1055
Bacitracina e polimixina preparazione oftalmica semisolido, 1055
Bacitracina e polimixina unguento, 1056
Bagno oculare, soluzione, 1024
Balsamico per adulti unguento, 1073
Balsamico per bambini, 1152
Base per emulsione cutanea, 1057
Basi per preparazioni liquide per uso orale, 1057
Bastoncini, 886
Belladonna estratto fluido titolato, 966
Belladonnae foliae extractum fluidum normatum, 966
Benzalconio concentrato per soluzione cutanea, 1058
Benzile benzoato unguento, 1058
Benzilpenicillina benzatinica polvere sterile per preparazioni iniettabili, 1059
Benzilpenicillina benzatinica preparazione iniettabile, 1059
Benzilpenicillina potassica polvere sterile per preparazioni iniettabili, 1061
Benzilpenicillina potassica preparazione iniettabile, 1061
Benzoile perossido crema, 1063
Bergamiae aetheroleum, 968
Bergamotto essenza, 968
Betametasona crema, unguento, 1064
Betametasona e neomicina crema, unguento, 1064

Betametasona e neomicina preparazione semisolido per applicazione cutanea, 1064
Betametasona preparazione semisolido per applicazione cutanea, 1064
Blu di metilene fiale, 1216
Blu di metilene soluzione, 1216
Bromosulfoftaleina sodica, 970
Bromosulfoftaleina preparazione iniettabile, 1066
Bromosulfoftaleina sodica fiale, 1066
Bromosulphoptaleinum natricum, 970

C

Calcio carbonato e magnesio idrossido compresse, 1066
Calcio cloruro concentrato sterile, 1067
Calcio cloruro e magnesio cloruro concentrato sterile, 1068
Calcio cloruro soluzione, fiale da diluire, 1067
Calcio e magnesio cloruro soluzione da diluire, 1068
Calcio edetato bisodico fiale da diluire, 1268
Calcio gluconato fiale, 1068
Calcio gluconato preparazione iniettabile, 1068
Calcio idrossido emulsione cutanea, 1069
Calcio idrossido soluzione cutanea, 1070
Calcio idrossido unguento, 1070
Calcio nei vaccini adsorbiti, (2.5.14), 175
Calcio, (2.4.3), 136
Camomilla estratto idroalcolico secco titolato, 971
Canfora crema, 1070
Canfora e metile salicilato crema, 1072
Canfora soluzione cutanea oleosa, 1072
Canfora soluzione cutanea, 1071
Canfora soluzione idroalcolica Alcool canforato, 1071
Canfora soluzione oleosa, 1072

- Canfora, eucaliptolo e mentolo unguento, 1073
- Canfosalicilica crema*, 1072
- Capitoli generali, (1.1.3), 7
- Capsulae*, 886
- Capsule, 886
- Caratteristiche legate alla funzionalità degli eccipienti, (5.15), 819
- Caratterizzazione dei solidi cristallini e parzialmente cristallini mediante diffrazione di raggi X su polvere (XRPD), (2.9.33), 410
- Carbone attivo polvere*, 1075
- Carbone composto compresse, 1074
- Carbone e alluminio ossido idrato polvere per sospensione orale, 1075
- Carbone polvere per sospensione orale, 1075
- Carbonio Diossido nei gas, (2.5.24), 179
- Carbonio monossido nei gas, (2.5.25), 180
- Carbonio organico totale nell'acqua per uso farmaceutico, (2.2.44), 93
- Carciofo estratto secco purificato e quantificato, 972
- Cefalexina capsule, 1076
- Cefalexina compresse, 1077
- Cefalexina granulato per sospensione orale, 1078
- Cefalotina sodica polvere sterile per preparazioni iniettabili*, 1079
- Cefalotina sodica preparazione iniettabile, 1079
- Ceneri insolubili in acido cloridrico, (2.8.1), 323
- Ceneri solforiche, (2.4.14), 142
- Ceneri totali, (2.4.16), 143
- Cerotti transdermici, 889
- Cetomacrogol crema base Cetomacrogol crema base grassa Cetomacrogol unguento base*, 1203
- Cetrimide concentrato per soluzione cutanea, 1081
- Cetrimide soluzione concentrata*, 1081
- Chinidina solfato compresse, 1081
- Chinina cloridrato concentrato sterile, 1082
- Chinina cloridrato fiale da diluire*, 1082
- Chinina solfato compresse rivestite, 1083
- Chiusure in materiale elastomero per contenitori per preparazioni acquose ad uso parenterale, per polveri e per polveri liofilizzate., (3.2.9), 516
- Chlophenotatum*, 973
- Citometria a flusso, (2.7.24), 308
- Citrato di magnesia effervescente*, 1204
- Citri nobilis aetheroleum*, 986
- Classificazione granulometrica delle polveri mediante setacciatura, (2.9.12), 363
- Clofenotano polvere cutanea, 1083
- Clofenotano, 973
- Cloramfenicolo capsule, 1084
- Cloramfenicolo collirio soluzione, 1085
- Cloramfenicolo palmitato sciroppo, 1087
- Cloramfenicolo pomata oftalmica*, 1086
- Cloramfenicolo sodio succinato polvere sterile per preparazioni iniettabili*, 1088
- Cloramfenicolo sodio succinato preparazione iniettabile, 1088
- Cloramfenicolo soluzione oftalmica*, 1085
- Cloramfenicolo unguento oftalmico, 1086
- Clordiazepossido compresse rivestite, 1089
- Cloroquina fosfato compresse, 1090
- Clorpromazina compresse rivestite, 1091
- Clorpromazina preparazione iniettabile, 1092
- Clorpromazina sciroppo, 1093
- Clorpropamide compresse, 1093
- Cloruri, (2.4.4), 136
- Cloxacillina capsule, 1094
- Cloxacillina granulato per soluzione orale, 1095
- Cloxacillina sodica polvere sterile per preparazioni iniettabili*, 1096
- Cloxacillina sodica preparazione iniettabile, 1096
- Codeina capsule, 1098
- Codeina compresse, 1098
- Codeina e paracetamolo capsule, 1099
- Codeina e paracetamolo compresse, 1100
- Codeina e sodio benzoato sciroppo, 1101
- Colchicina compresse, 1102
- Colesterolo totale negli oli ricchi in acidi omega-3, (2.4.32), 163
- Culture cellulari per la produzione di vaccini per uso veterinario, (5.2.4), 719
- Combustione in ossigeno, (2.5.10), 173
- Composizione in acidi grassi degli oli ricchi di acidi omega-3, (2.4.29), 160
- Composizione in acidi grassi mediante gas cromatografia, (2.4.22), 145
- Compressae*, 890
- Compresse, 890
- Conduttività, (2.2.38), 81
- Conta e vitalità delle cellule nucleate, (2.7.29), 314
- Contaminazione particellare: particelle non visibili, (2.9.19), 386
- Contaminazione particellare: particelle visibili, (2.9.20), 389
- Contenitori di plastica sterili per sangue umano e sue frazioni, (3.2.3), 507
- Contenitori di vetro per uso farmaceutico, (3.2.1), 497
- Contenitori e chiusure in plastica per uso farmaceutico, (3.2.2), 505
- Contenitori sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per sangue umano contenenti una soluzione anticoagulante, (3.2.5), 511
- Contenitori vuoti sterili in materiale a base di polivinile cloruro plastificato per sangue umano e sue frazioni., (3.2.4), 510
- Contenitori, (3.2), 497
- Contenuto di etanolo e tabelle alcooliche, (2.9.10), 361

- Controllo delle impurezze nelle sostanze per uso farmaceutico, (5.10), 785
- Controllo microbiologico dei prodotti cellulari, (2.6.27), 259
- Controllo microbiologico dei prodotti non sterili: saggi di conta microbica*, (2.6.12), 209
- Controllo microbiologico di prodotti non sterili: saggio per i microrganismi specificati*, (2.6.13), 216
- Corpora ad usum pharmaceuticum*, 866
- Correlazione tra reazione della soluzione, pH approssimato e colorazione di alcuni indicatori, (2.2.4), 36
- Cortisone compresse, 1102
- Crema canforata*, 1070
- Cristal violetto soluzione*, 1215
- Cromatografia a fluido supercritico, (2.2.45), 94
- Cromatografia liquida, (2.2.29), 62
- Cromatografia per esclusione, (2.2.30), 64
- Cromatografia su carta, (2.2.26), 58
- Cromatografia su strato sottile, (2.2.27), 58
- Cynarae extractum siccum raffinatum et quantificatum*, 972
- D**
- Densità dei solidi mediante picnometria a gas, (2.9.23), 391
- Densità d'insieme (Bulk Density) e densità da compattazione (Tapped density) delle polveri, (2.9.34), 417
- Densità dei solidi, (2.2.42), 88
- Densità relativa, (2.2.5), 36
- Desametasone compresse, 1103
- Destrometorfano compresse masticabili, 1105
- Destrometorfano gocce orali, 1106
- Destrometorfano sciroppo, 1107
- Determinazione dei tannini nelle droghe vegetali, (2.8.14), 329
- Determinazione del tempo di rammollimento di supposte lipofile, (2.9.22), 390
- Determinazione dell'acqua per distillazione, (2.2.13), 43
- Determinazione dell'azoto amminico primario aromatico, (2.5.8), 172
- Determinazione dell'azoto, (2.5.9), 172
- Determinazione delle essenze nelle droghe vegetali, (2.8.12), 325
- Determinazione potenziometrica del pH, (2.2.3), 34
- Determinazione potenziometrica della concentrazione ionica utilizzando elettrodi ione-selettivi, (2.2.36), 79
- Determinazione quantitativa delle cellule progenitrici ematopoietiche umane che formano colonie, (2.7.28), 312
- Dexpantenolo composto crema, 1109
- Dexpantenolo crema grassa*, 1109
- Dexpantenolo crema idrofoba, 1109
- Dexpantenolo crema, 1108
- Diazepam compresse rivestite, 1109
- Diazepam preparazione iniettabile, 1110
- Dicroismo circolare, (2.2.41), 86
- Difenidramina compresse, 1111
- Difenidramina sciroppo, 1112
- Digitossina compresse, 1113
- Digitossina fiale*, 1115
- Digitossina preparazione iniettabile, 1115
- Digossina compresse, 1115
- Digossina preparazione iniettabile, 1116
- Dimenidrinato compresse, 1117
- Dimeticone capsule, 1118
- Dimeticone crema, 1118
- Diossido di zolfo, (2.5.29), 182
- Disaggregazione delle compresse e delle capsule, (2.9.1), 339
- Disaggregazione delle supposte e degli ovuli, (2.9.2), 342
- Disinfettanti per uso umano o veterinario (antisettici), 974
- Dispositivi intraruminali, 894
- Dissoluzione apparente, (2.9.43), 441
- Dissoluzione intrinseca, (2.9.29), 399
- Distribuzione della massa molecolare nei destrani, (2.2.39), 82
- Distribuzione delle dimensioni delle particelle: stima mediante setacciatura analitica, (2.9.38), 429
- Dopamina concentrato sterile, 1119
- Dopamina fiale da diluire*, 1119
- Dosaggi biologici, (2.7), 263
- Dosaggio degli interferoni, (5.6), 761
- Dosaggio del fattore di von Willebrand umano, (2.7.21), 303
- Dosaggio del fattore II di coagulazione del sangue umano, (2.7.18), 300
- Dosaggio del fattore IX di coagulazione del sangue umano, (2.7.11), 292
- Dosaggio del fattore VII della coagulazione del sangue umano, (2.7.10), 290
- Dosaggio del fattore VIII della coagulazione del sangue umano, (2.7.4), 272
- Dosaggio del fattore X di coagulazione del sangue umano, (2.7.19), 300
- Dosaggio del fattore XI di coagulazione del sangue umano, (2.7.22), 305
- Dosaggio del vaccino dell'epatite A, (2.7.14), 297
- Dosaggio del vaccino dell'epatite B (RDNA), (2.7.15), 297
- Dosaggio del vaccino difterico adsorbito, (2.7.6), 274
- Dosaggio del vaccino pertossico acellulare, (2.7.16), 298
- Dosaggio del vaccino pertossico, (2.7.7), 282
- Dosaggio del vaccino tetanico adsorbito, (2.7.8), 282
- Dosaggio dell'1,8-cineolo nelle essenze, (2.8.11), 325
- dosaggio dell'antitrombina III umana, (2.7.17), 299
- Dosaggio dell'eparina nei fattori della coagulazione, (2.7.12), 292
- Dosaggio dell'eparina, (2.7.5), 273
- Dosaggio dell'immunoglobulina umana anti-D, (2.7.13), 293

- Dosaggio dell'inibitore della plasmina umana, (2.7.25), 310
- Dosaggio della proteina C umana, (2.7.30), 316
- Dosaggio della proteina S umana, (2.7.31), 318
- Dosaggio in vivo del vaccino inattivato della poliomielite, (2.6.16), 301
- Dosaggio microbiologico degli antibiotici, (2.7.2), 265
- Doxiciclina capsule, 1120
- Droghe vegetali per preparazioni omeopatiche, 1331
- Droghe vegetali, 831
- Droghe vegetali: campionamento e preparazione del campione, (2.8.20), 333
- Droghe vegetali: determinazione della aflatoxina B₁, (2.8.18), 330
- ## E
- Efedrina cloridrato fiale*, 1121
- Efedrina compresse, 1121
- Efedrina preparazione iniettabile, 1121
- Efficacia della conservazione antimicrobica, (5.1.3), 681
- Elementi estranei, (2.8.2), 323
- Elettroforesi capillare, (2.2.47), 101
- Elettroforesi, (2.2.31), 66
- Elettrolitica bilanciata di mantenimento con glucosio I infusione endovenosa, 1123
- Elettrolitica bilanciata di mantenimento con glucosio II infusione endovenosa, 1125
- Elettrolitica di mantenimento con glucosio infusione endovenosa, 1126
- Elettrolitica equilibrata enterica infusione endovenosa, 1129
- Elettrolitica equilibrata gastrica con glucosio al 10 per cento infusione endovenosa, 1130
- Elettrolitica equilibrata gastrica infusione endovenosa, 1130
- Elettrolitica equilibrata pediatrica infusione endovenosa, 1132
- Elettrolitica reidratante con glucosio e calcio gluconato infusione endovenosa, 1138
- Elettrolitica reidratante I infusione endovenosa, 1134
- Elettrolitica reidratante III con glucosio infusione endovenosa, 1136
- Elettrolitica reidratante III infusione endovenosa, 1135
- Elettrolitica reidratante soluzione orale, 1140
- Emetina cloridrato fiale*, 1141
- Emetina preparazione iniettabile, 1141
- Emoagglutinine anti-a ed anti-b (metodo indiretto), (2.6.20), 242
- Emplastra transcutanea*, 889
- Endotossine batteriche, (2.6.14), 223
- Epinefrina collirio*, 1030
- Ergometrina compresse, 1142
- Ergometrina maleato fiale*, 1143
- Ergometrina preparazione iniettabile, 1143
- Ergotamina compresse, 1144
- Ergotamina preparazione iniettabile, 1145
- Ergotamina tartrato fiale*, 1145
- Eritromicina crema, 1146
- Eritromicina etilsuccinato granulato per sospensione orale, 1148
- Eritromicina lattobionato polvere sterile per preparazioni iniettabili.*, 1148
- Eritromicina lattobionato preparazione iniettabile, 1148
- Eritromicina lozione*, 1147
- Eritromicina soluzione cutanea, 1147
- Eritromicina stearato compresse rivestite con film, 1150
- Esosammine nei vaccini polisaccaridici, (2.5.20), 177
- Essenze, 834
- Esteri estranei nelle essenze, (2.8.6), 324
- Estratti, 832
- Etambutolo compresse rivestite, 1151
- Etilene ossido e diossano, (2.4.25), 156
- Etilene-vinile acetato copolimero per contenitori e tubolature per preparazioni destinate alla nutrizione parenterale totale, (3.1.7), 473
- Eucalipto composto gocce nasali, 1152
- Eucalipto e pino silvestre unguento, 1152
- Eugenolo e clorobutanolo soluzione dentale, 1152
- Extracta*, 832
- ## F
- Fattori della coagulazione attivati, (2.6.22), 247
- Fenilbutazone compresse rivestite, 1153
- Fenilbutazone supposte, 1154
- Fenilefrina cloridrato soluzione oftalmica*, 1155
- Fenilefrina collirio soluzione, 1155
- Fenilefrina e idrocortisone gocce nasali sospensione, 1156
- Fenilefrina gocce nasali soluzione, 1155
- Fenitoina compresse, 1157
- Fenitoina sciroppo, 1158
- Fenitoina sodica compresse*, 1157
- Fenobarbital compresse, 1158
- Fenobarbital sodico elisir*, 1160
- Fenobarbital sodico liquido per uso orale, 1160
- Fenobarbital sodico preparazione iniettabile, 1160
- Fenobarbital sodico, fiale*, 1160
- Fenobarbital supposte, 1159
- Fenolo gocce auricolari, 1161
- Fenolo nei sierimmuni e nei vaccini, (2.5.15), 175
- Fenolo soluzione cutanea, 1162
- Fenolsulfonftaleina fiale*, 1163
- Fenolsulfonftaleina preparazione iniettabile, 1163
- Fenossimetilpenicillina compresse, 1163
- Fenossimetilpenicillina granulato per soluzione orale, 1164
- Ferro ossido giallo, 977

Ferro ossido rosso, 979
Ferro, (2.4.9), 141
Ferroso solfato compresse rivestite, 1165
Ferrum oxydatum flavum, 977
Ferrum oxydatum rubrum, 979
Finezza delle polveri, (2.9.35), 420
Finocchio dolce essenza, 980
Fisostigmina preparazione iniettabile, 1166
Fisostigmina salicilato fiale Eserina fiale, 1166
Fluoresceina collirio soluzione, 1167
Fluoresceina sodica soluzione oftalmica, 1167
Fluorimetria, (2.2.21), 48
Fluoruri, (2.4.5), 136
Focalizzazione isoelettrica, (2.2.54), 111
Foeniculi aetheroleum, 980
Formaldeide libera, (2.4.18), 143
Fosfati, (2.4.11), 142
Fosforo nei vaccini polisaccaridici, (2.5.18), 176
Friabilità delle compresse non rivestite, (2.9.7), 358
Friabilità di granuli e sferoidi, (2.9.41), 438
Fruttosio infusione endovenosa, 1167
Ftalilsulfatiazolo compresse, 1168
Furosemide compresse, 1169
Furosemide fiale, 1170
Furosemide preparazione iniettabile, 1170

G

Gas cromatografia, (2.2.28), 60
Gel base per preparazione semisolida per applicazione cutanea, 1171
Generalità, (1.1.1), 5
Gengivario soluzione, 1219

Gentamicina preparazione iniettabile, 1171
Gentamicina solfato fiale, 1171
Gentianae extractum fluidum, 982
Genziana estratto fluido, 982
Glicerina fenica, 1161
Glicerina ittiolata, 1182
Glicerina microclismi, 1173
Glicerina supposte, 1174
Glicerolo con sodio cloruro infusione endovenosa, 1174
Glicerolo gel, 1172
Glicerolo soluzione rettale, 1173
Glicerolo supposte, 1174
Glicerolo unguento, 1175
Glicina e mannitolo soluzione per irrigazione, 1176
Glicina soluzione per irrigazione, 1176
Glicole etilenico e glicole dietilenico nelle sostanze etossilate, (2.4.30), 162
Glucosio preparazioni parenterali, 1178
Glucosio collirio solido, 1177
Glucosio con potassio cloruro infusione endovenosa, 1178
Glucosio con potassio cloruro Soluzioni perfusionali I - II, 1178
Glucosio con sodio cloruro infusione endovenosa, 1180
Glucosio gel oftalmico, 1177
Glucosio soluzione perfusionale Glucosio fiale, 1178
Gocce nasali di protargolo, 1051
Gocce odontalgiche, 1152
Gomme da masticare medicate, 895
Grado di colorazione dei liquidi, (2.2.2), 32
Granulata, 895
Granulati, 895
Griseofulvina compresse, 1181
hei extractum fluidum, 999

H

Hydrargyrum oxydatum flavum, 990
Hydrocortisonum natrium succinicum, 982

I

Ictammolo gocce auricolari soluzione, 1182
Ictammolo unguento emulsionante, 1183
Ictammolo unguento, 1182
Identificazione degli oli grassi mediante cromatografia su strato sottile, (2.3.2), 130
Identificazione delle fenotiazine mediante cromatografia su strato sottile, (2.3.3), 131
Identificazione e controllo dei solventi residui, (2.4.24), 150
Identificazione, (2.3), 125
Idroclorotiazide compresse, 1184
Idrocortisone acetato crema Idrocortisone acetato unguento, 1186
Idrocortisone acetato e neomicina solfato crema Idrocortisone acetato e neomicina solfato unguento, 1189
Idrocortisone acetato e neomicina solfato pomata oftalmica, 1188
Idrocortisone acetato pomata oftalmica, 1185
Idrocortisone e neomicina collirio sospensione, 1187
Idrocortisone e neomicina preparazione oftalmica semisolida, 1188
Idrocortisone e neomicina preparazione semisolida per applicazione cutanea, 1189
Idrocortisone preparazione oftalmica semisolida, 1185
Idrocortisone preparazione semisolida per applicazione cutanea, 1186

Idrocortisone sodio succinato, 982
Idroxocobalamina liofilizzato, 1190
 Idroxocobalamina preparazione iniettabile, 1190
 Imipramina compresse rivestite, 1192
Immunosera ad usum veterinarium, 861
 Impurezze alcaline negli oli grassi, (2.4.19), 144
 Indicatori biologici di sterilizzazione, (5.1.2), 680
 Indice di acidità, (2.5.1), 169
 Indice di amarezza, (2.8.15), 329
 Indice di anisidina, (2.5.36), 190
 Indice di esteri, (2.5.2), 169
 Indice di flocculazione (Lf) delle tossine e delle anatossine difterica e tetanica (dosaggio Ramon), (2.7.27), 311
 Indice di iodio, (2.5.4), 170
 Indice di ossidrilico, (2.5.3), 169
 Indice di perossidi, (2.5.5), 171
 Indice di rifrazione, (2.2.6), 37
 Indice di rigonfiamento, (2.8.4), 324
 Indice di saponificazione, (2.5.6), 172
Inhalanda, 926
 Intervallo di distillazione, (2.2.11), 42
 Introduzione, 1329
 Iodio e acido salicilico soluzione cutanea, 1195
 Iodio e glicerolo soluzione, 1196
Iodio soluzione alcoolica I Tintura di Iodio, 1193
Iodio soluzione alcoolica II, 1194
 Iodio soluzione cutanea, 1193
Iodio soluzione glicerica Tintura di iodio e glicerina, 1196
 Iodio soluzione orale, 1194
 Iodio unguento, 1194
Iodio-salicilica soluzione idroalcolica, 1195
Iodo-iodurato unguento, 1194
Iodopovidone soluzione, 1250
Iodopovidone unguento, 1250
 Ipecacuana sciroppo emetico, 1196
 Ippocastano, 984
 Isoniazide compresse, 1197
 Isoniazide sciroppo, 1198
Isoprenalina cloridrato fiale, 1198
 Isoprenalina preparazione iniettabile, 1198
 Istamina, (2.6.10), 208
Ittiolo unguento lavabile, 1183
Ittiolo unguento, 1182

K

Kalium iodatum, 997

L

Lampade a luce ultravioletta per scopi analitici, (2.1.3), 23
Lanolina alcoolici crema, unguento base, 1033
Lanovaselina unguento base, 1317
Lidocaina cloridrato e idrocortisone acetato unguento, crema., 1200
Lidocaina cloridrato fiale, 1199
 Lidocaina e idrocortisone preparazione semisolida per applicazione cutanea, 1200
 Lidocaina preparazione iniettabile, 1199
 Lidocaina preparazione semisolida per applicazione cutanea, 1199
Limonata citro-magnesiaca compresse, 1203
Limonata citro-magnesiaca polvere, 1204
 Limpidezza e grado di opalescenza dei liquidi, (2.2.1), 29
 Linea guida per l'uso del saggio di sterilità, (5.1.9), 704
Linimento oleo-calcareo, 1069
 Litio carbonato capsule, 1201
 Litio carbonato compresse, 1202

M

Macrogol cetostearile etere crema e unguento base, 1203
 Macrogol unguento base, 1202
 Magnesio carbonato e acido citrico compresse, 1203
 Magnesio carbonato e acido citrico granulato effervescente per soluzione orale, 1204
 Magnesio carbonato e acido citrico polvere per soluzione orale, 1204
 Magnesio cloruro concentrato sterile, 1205
Magnesio cloruro soluzione da diluire, 1205
 Magnesio e metalli alcalino terrosi, (2.4.7), 137
 Magnesio idrossido compresse masticabili, 1206
 Magnesio solfato concentrato sterile, 1206
Magnesio solfato fiale da diluire Magnesio solfato soluzione da diluire, 1206
 Magnesio, (2.4.6), 137
 Mandarinino essenza, 986
 Mannitolo e sodio cloruro infusione endovenosa, 1208
 Mannitolo e sorbitolo soluzione per irrigazione, 1209
 Mannitolo infusione endovenosa, 1207
Masticabilis cummis medicata, 895
 Materiali a base di polivinile cloruro non-plastificato per contenitori per forme farmaceutiche essiccate per somministrazione orale, (3.1.11), 481
 Materiali a base di polivinile cloruro non-plastificato per contenitori per soluzioni acquose non iniettabili, (3.1.10), 478
 Materiali a base di polivinile cloruro plastificato per contenitori per soluzioni acquose per infusione endovenosa, (3.1.14), 487
 Materiali per contenitori per sangue umano e sue frazioni, (3.1.1), 449

- Materiali usati nella fabbricazione di contenitori, (3.1), 449
- Matricariae extractum hydroalcoholicum siccum, normatum*, 971
- Medicamenta mephitis ad usum humanum, veterinarium*, 974
- Medicinali per il trasferimento genico per uso umano, (5.14), 805
- Mefenesina, 988
- Melaleuca aetheroleum*, 990
- Mentolo composto soluzione per suffumigi, 1210
- Mentolo polvere cutanea, 1210
- Mephenesinum*, 988
- Merbromina soluzione cutanea, 1211
- Merbromina, 988
- Merbrominum*, 988
- Mercurio ossido giallo pomata oftalmica*, 1211
- Mercurio ossido giallo preparazione oftalmica semisolida, 1211
- Mercurio ossido giallo, 990
- Metadone sciroppo, 1212
- Metalli pesanti nelle droghe vegetali e negli oli grassi, (2.4.27), 158
- Metalli pesanti, (2.4.8), 137
- Metile salicilato unguento, 1213
- Metilpentosi nei vaccini polisaccaridici, (2.5.21), 178
- Metilprednisolone compresse, 1213
- Metilrosanilinio cloruro soluzione cutanea, 1215
- Metiltioninio preparazione iniettabile, 1216
- Metiltioninio soluzione cutanea, 1216
- Metodi alternativi per il controllo della qualità microbiologica, (5.1.6), 686
- Metodi di preparazione di materiali di partenza omeopatici e diluizioni, 1333
- Metodi di preparazione di prodotti sterili, (5.1.1), 677
- Metodi fisici e fisico-chimici, (2.2), 29
- Metodi generali di farmacognosia, (2.8), 323
- Metodi immunochimici, (2.7.1), 263
- Metodo del viscosimetro a capillare, (2.2.9), 39
- Metodo del viscosimetro a sfera cadente, (2.2.49), 111
- Metronidazolo compresse vaginali, 1218
- Metronidazolo compresse, 1217
- Micobatteri, (2.6.2), 198
- Micoplasmi, (2.6.7), 198
- Microdeterminazione dell'acqua, (2.5.32), 183
- Microscopia ottica, (2.9.37), 426
- Minimizzazione del rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali tramite i prodotti medicinali, (5.2.8), 727
- Mirra e ratania soluzione gengivale, 1219
- Misura della consistenza per penetrometria, (2.9.9), 359
- Monografie, (1.1.4), 8
- Morfina cloridrato e atropina preparazione iniettabile, 1222
- Morfina cloridrato preparazione iniettabile, 1219
- Morfina cloridrato sciroppo, 1220
- Morfina solfato compresse, 1221
- Musci medicati*, 941
- Niaouli essenza e mentolo gocce nasali, 1227
- Niaouli essenza gocce nasali, 1226
- Niaouli essenza, 990
- Nichel negli oli vegetali idrogenati, (2.4.31), 163
- Nichel nei polioli, (2.4.15), 142
- Nicotinamide compresse, 1228
- Nimorazolo, 993
- Nimorazolum*, 993
- Nistatina compresse rivestite, 1229
- Nistatina sciroppo, 1229
- Nitrofurale compresse vaginali, 1230
- Nitrofurantoina compresse, 1230
- Nitrofurantoina sciroppo, 1231
- Nitrofurazone compresse vaginali*, 1230
- Nitroglicerina compresse sublinguali, 1232
- Nitroglicerina, 994
- Nitroglycerinum*, 994
- Noradrenalina concentrato per soluzione iniettabile, 1233
- Noradrenalina tartrato fiale da diluire*, 1233
- Numerazione delle cellule CD34/CD45+ nei prodotti ematopoietici, (2.7.23), 306

N

- N,N-Dimetilanilina, (2.4.26), 157
- Nafazolina collirio soluzione, 1223
- Nafazolina nitrato soluzione oftalmica*, 1223
- Naloxone preparazione iniettabile, 1224
- Nasalia*, 913
- Natrium indigotindisulfonicum*, 1002
- Natrium stibium gluconicum*, 1003
- Neomicina collirio soluzione, 1225
- Neomicina preparazione oftalmica semisolida, 1225
- Neomicina solfato pomata oftalmica*, 1225
- Neomicina solfato soluzione oftalmica*, 1225

O

- O-Acetile nei vaccini polisaccaridici, (2.5.19), 177
- Octatropina metilbromuro, 995
- Octatropinum methylbromidum*, 995
- Odore e sapore delle essenze, (2.8.8), 324
- Odore, (2.3.4), 131
- Olea herbaria*, 837
- Oli estranei negli oli grassi mediante cromatografia su strato sottile, (2.4.21), 144
- Oli grassi ed essenze resinificate nelle essenze, (2.8.7), 324
- Oli grassi vegetali, 837
- Olio di mandorla con zinco unguento*, 1323

- Olio di ricino capsule, 1234
 Olio di silicone usato come lubrificante, (3.1.8), 475
Olio di vaselina (emulsione), 1238
Olio e zinco ossido linimento, 1320
Olio gomenolato, 1226
 Omatropina collirio soluzione, 1234
Ophthalmica, 915
 Osmolalità, (2.2.35), 78
 Ossigeno nei gas, (2.5.27), 181
- ## P
- Papaverina cloridrato fiale*, 1235
 Papaverina preparazione iniettabile, 1235
 Paracetamolo compresse, 1236
Paracetamolo elisir, 1236
 Paracetamolo sciroppo, 1236
 Paracetamolo supposte, 1237
 Paraffina liquida emulsione, 1238
Parenteralia, 923
Pasta di Lassar, 1321
Pasta molle di Unna, 1322
Pentamidina diisetionato polvere sterile per preparazioni iniettabili, 1239
 Pentamidina preparazione iniettabile, 1239
 Pentetrazolo, 996
Pentetrazolum, 996
 Perdita all'essiccamento degli estratti, (2.8.17), 330
 Perdita all'essiccamento, (2.2.32), 74
Petidina cloridrato fiale, 1240
 Petidina preparazione iniettabile, 1240
 Piante per tisane, 839
Pilocarpina cloridrato pomata oftalmica, 1242
Pilocarpina cloridrato soluzione oftalmica, 1241
 Pilocarpina collirio soluzione, 1241
 Pilocarpina preparazione oftalmica semisolido, 1242
 Pino composto soluzione per suffumigi, 1242
 Piombo negli zuccheri, (2.4.10), 141
 Piperazina capsule, 1243
 Pirimetamina compresse, 1243
 Pirogeni, (2.6.8), 206
Plantae ad ptisanam, 839
Plantae medicinales praeparatae, 840
Plantae medicinales, 831
 Polietilene con additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche, (3.1.5), 463
 Polietilene senza additivi per contenitori per preparazioni parenterali ed oftalmiche, (3.1.4), 462
 Polietilene tereftalato per contenitori per preparazioni per uso non parenterale, (3.1.15), 491
Polietilenglicoli unguento base, 1202
 Polimorfismo, (5.9), 781
 Poliolefine, (3.1.3), 456
 Polipropilene per contenitori e chiusure per preparazioni parenterali ed oftalmiche, (3.1.6), 468
 Polveri per applicazione cutanea, 897
 Polveri per uso orale, 898
 Porosità e distribuzione della dimensione dei pori dei solidi mediante porosimetria a mercurio, (2.9.32), 407
 Potassio acetato concentrato sterile, 1244
 Potassio cloruro concentrato sterile, 1245
 Potassio cloruro soluzione orale, 1245
 Potassio fosfato concentrato sterile, 1246
 Potassio fosfato monobasico compresse, 1247
Potassio fosfato soluzione da diluire, 1246
 Potassio iodato compresse, 1247
 Potassio iodato, 997
 Potassio ioduro compresse, 1248
 Potassio ioduro gocce, 1248
 Potassio lattato concentrato sterile, 1249
Potassio lattato soluzione da diluire, 1249
 Potassio permanganato compresse per soluzione cutanea, 1249
 Potassio, (2.4.12), 142
 Potere rotatorio, (2.2.7), 38
 Povidone-iodio soluzione cutanea, 1250
 Povidone-iodio unguento, 1250
Praeadmixta ad alimenta medicata ad usum veterinarium, 899
Praeparationes ad irrigationem, 932
Praeparationes buccales, 918
Praeparationes homoeopathicae, 1329
Praeparationes intra-uterinae ad usum veterinarium, 904
Praeparationes intramammariae ad usum veterinarium, 903
Praeparationes intraruminales, 894
Praeparationes liquidae ad usum dermicum, 906
Praeparationes liquidae perorales, 908
Praeparationes liquidae veterinariae ad usum dermicum, 911
Praeparationes molles ad usum dermicum, 935
Praeparationes pharmaceuticae in vasis cum pressu, 902
 Pralidossima metilsolfato, 998
Pralidoximum methylsulfuricum, 998
 Premiscele per mangimi medicati per uso veterinario, 899
 Preparazioni a base di droghe vegetali, 840
 Preparazioni auricolari, 900
 Preparazioni farmaceutiche pressurizzate, 902
 Preparazioni intramammarie per uso veterinario, 903
 Preparazioni intrauterine per uso veterinario, 904
 Preparazioni liquide per applicazione cutanea, 906
 Preparazioni liquide per uso orale, 908
 Preparazioni liquide veterinarie per applicazione cutanea, 911
 Preparazioni nasali, 913
 Preparazioni oftalmiche, 915
 Preparazioni omeopatiche, 1329
 Preparazioni oromucosali, 918
 Preparazioni parenterali, 923

Preparazioni per inalazione, 926
Preparazioni per inalazione: valutazione aerodinamica delle particelle fini, (2.9.18), 369
Preparazioni per irrigazione, 932
Preparazioni radiofarmaceutiche, 840
Preparazioni rettali, 933
Preparazioni semisolide per applicazione cutanea, 935
Preparazioni vaginali, 938
Prescrizioni generali della Farmacopea Europea, (1.1), 5
Prescrizioni generali, (1), 5
Primachina compresse rivestite, 1251
Probenecid compresse, 1251
Procainamide compresse, 1252
Procainamide preparazione iniettabile, 1253
Procainammide cloridrato fiale, 1253
Prodotti allergenici, 849
Prodotti aventi il rischio di trasmettere gli agenti delle encefalopatie spongiformi animali, 849
Prodotti di fermentazione, 852
Prodotti ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinante, 854
Producta ab arte ADN recombinandum, 854
Producta ab fermentatione, 852
Producta allergenica, 849
Producta cum possibili trasmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium, 849
Prometazina compresse rivestite, 1253
Prometazina crema, 1254
Propifenazone compresse, 1255
Propifenazone supposte, 1256
Proteine nei vaccini polisaccaridici, (2.5.16), 176
Proteine totali, (2.5.33), 183
Pulveres ad usum dermicum, 897
Pulveres perorales, 898
Punto di ebollizione, (2.2.12), 43

Punto di fusione - metodo al capillare aperto, (2.2.15), 44
Punto di fusione - metodo al capillare, (2.2.14), 44
Punto di fusione - metodo della fusione istantanea, (2.2.16), 44
Punto di fusione. Metodo strumentale, (2.2.60), 119
Punto di gocciolamento, (2.2.17), 45
Punto di solidificazione, (2.2.18), 46

Q

Qualità microbiologica delle preparazioni farmaceutiche e delle sostanze per uso farmaceutico non sterili, (5.1.4), 683

R

Rabarbaro estratto fluido, 999
Rabarbaro estratto secco, 1000
Radiopharmaceutica, 840
Reattivi speciali per volumetria, (4.2.1), 664
Reattivi, (4.1.1), 521
Reattivi, soluzioni standard, soluzioni tampone, (4.1), 521
Reazioni di identificazione degli ioni e dei gruppi funzionali, (2.3.1), 125
Rectalia, 933
Reserpina compresse, 1256
Residui di pesticidi, (2.8.13), 327
Residuo alla evaporazione delle essenze, (2.8.9), 324
Residuo secco degli estratti, (2.8.16), 330
Resistenza alla rottura delle compresse, (2.9.8), 359
Rhei extractum siccum, 1000
Ribosio nei vaccini polisaccaridici, (2.5.31), 182
Rifampicina capsule, 1257
Rifampicina sciroppo, 1258

Ringer acetato infusione endovenosa, 1260
Ringer infusione endovenosa, 1259
Ringer lattato infusione endovenosa, 1261
Rinobalsamiche gocce nasali, 1227

S

Saccarosio sciroppo, 1262
Saggi biologici, (2.6), 193
Saggi e procedimenti tecnologici, (2.9), 339
Saggi limite, (2.4), 135
Saggio della funzione Fc dell'immunoglobulina, (2.7.9), 289
Saggio di dissoluzione per i cerotti transdermici, (2.9.4), 354
Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide, (2.9.3), 343
Saggio di dissoluzione per le forme farmaceutiche solide lipofile, (2.9.42), 440
Saggio di dissoluzione per le gomme da masticare medicate, (2.9.25), 392
Saggio per gli agenti estranei nei vaccini virali per uso umano, (2.6.16), 235
Saggio per gli anticorpi anti-D nella immunoglobulina umana per somministrazione endovenosa, (2.6.26), 258
Saggio per il volume estraibile delle preparazioni parenterali, (2.9.17), 368
Saggio per la neurovirulenza dei vaccini di virus vivi, (2.6.18), 240
Saggio per la neurovirulenza del vaccino poliomielitico per uso orale, (2.6.19), 240
Saggio per metanolo e 2-propanolo, (2.9.11), 363
Sali e glucosio polvere orale, 1263
Sali per reidratazione orale con glucosio, 1263
Schiуме medicate, 941
Sciroppo semplice, 1262

- Scopolamina preparazione iniettabile, 1264
- Scorrimento delle polveri, (2.9.36), 421
- Scorrimento, (2.9.16), 367
- Semi-micro determinazione dell'acqua, (2.5.12), 174
- Senna composta polvere orale, 1265
- Setacci, (2.1.4), 24
- Sezione caratteri nelle monografie, (5.11), 793
- Sicurezza virale, (5.1.7), 703
- Sierimmuni di origine animale per uso umano, 858
- Sierimmuni per uso veterinario, 861
- Silicone elastomero per chiusure e tubolature, (3.1.9), 476
- Siringhe di plastica monouso sterili, (3.2.8), 514
- Sobrerolo, 1001
- Sobrerolum*, 1001
- Sodio acetato concentrato sterile, 1266
- Sodio bicarbonato compresse, 1266
- Sodio bicarbonato concentrato sterile, 1267
- Sodio bicarbonato infusione endovenosa, 1267
- Sodio calcio edetato concentrato sterile, 1268
- Sodio carbonato gocce auricolari, 1269
- Sodio citrato compresse, 1269
- Sodio citrato concentrato sterile, 1269
- Sodio citrato e acido citrico preparazione iniettabile, 1270
- Sodio citrato preparazione iniettabile, 1270
- Sodio cloruro concentrato sterile, 1271
- Sodio cloruro gocce nasali Sodio cloruro gocce nasali viscoso*, 1272
- Sodio cloruro gocce nasali soluzione, 1272
- Sodio cloruro preparazioni parenterali, 1272
- Sodio cloruro soluzione da diluire*, 1271
- Sodio cloruro soluzione perfusionale Sodio cloruro fiale*, 1272
- Sodio edetato concentrato sterile, 1273
- Sodio edetato fiale da diluire*, 1273
- Sodio fluoruro compresse, 1274
- Sodio fosfato acido clisma*, 1274
- Sodio fosfato soluzione rettale, 1274
- Sodio indigotindisolfonato fiale*, 1275
- Sodio indigotindisolfonato preparazione iniettabile, 1275
- Sodio indigotindisolfonato, 1002
- Sodio lattato concentrato sterile, 1276
- Sodio lattato soluzione da diluire*, 1276
- Sodio nitroprussiato concentrato sterile, 1276
- Sodio nitroprussiato fiale da diluire*, 1276
- Sodio nitroprussiato polvere sterile per preparazioni iniettabili*, 1277
- Sodio nitroprussiato preparazione iniettabile, 1277
- Sodio salicilato compresse gastroresistenti, 1278
- Sodio stibogluconato preparazione iniettabile, 1279
- Sodio stibogluconato soluzione iniettabile*, 1279
- Sodio stibogluconato, 1003
- Sodio tiosolfato concentrato sterile, 1279
- Sodio tiosolfato infusione endovenosa, 1280
- Sodio tiosolfato soluzione da diluire*, 1279
- Solfati, (2.4.13), 142
- Solfo-alcalino unguento*, 1325
- Solfo-salicilico unguento*, 1324
- Solubilità delle essenze in alcool, (2.8.10), 324
- Solutiones ad conservationem partium corporis*, 1299
- Solutiones ad haemocolaturam haemodiacolaturamque*, 1295
- Solutiones ad haemodialysim*, 1292
- Solutiones ad peritonealem dialysim*, 1289
- Solutiones anticoagulantes et sanguinem humanum conservantes*, 1285
- Soluzione cardioplegica St. Thomas II*, 1281
- Soluzione per circolazione extracorporea, 1281
- Soluzione polialinica con potassio concentrato sterile, 1282
- Soluzione polialinica senza potassio concentrato sterile, 1283
- Soluzione salina per reidratazione orale*, 1140
- Soluzioni anticoagulanti e conservanti per il sangue umano, 1285
- Soluzioni concentrate per emodialisi*, 1292
- Soluzioni per dialisi peritoneale, 1289
- Soluzioni per emodialisi, 1292
- Soluzioni per emofiltrazione e per emodiafiltrazione, 1295
- Soluzioni per la conservazione degli organi, 1299
- Soluzioni polialiniche con potassio I e II*, 1282
- Soluzioni standard per saggi limite, (4.1.2), 654
- Soluzioni tampone, (4.1.3), 658
- Soluzioni titolate, (4.2.2), 665
- Solventi residui, (5.4), 733
- Sospensione di idrocortisone acetato in soluzione oftalmica di neomicina solfato*, 1187
- Sostanze di origine animale per la produzione di vaccini per uso veterinario, (5.2.5), 722
- Sostanze insaponificabili, (2.5.7), 172
- Sostanze ipotensive, (2.6.11), 209
- Sostanze ossidanti, (2.5.30), 182
- Sostanze per uso farmaceutico, 866
- Spettrofotometria di assorbimento nell'infrarosso, (2.2.24), 53
- Spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto e nel visibile, (2.2.25), 56
- Spettrometria di assorbimento atomico, (2.2.23), 50

Spettrometria di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente, (2.2.57), 114
Spettrometria di emissione atomica, (2.2.22), 48
Spettrometria di fluorescenza a raggi-X⁽¹⁾, (2.2.37), 80
Spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente, (2.2.58), 117
Spettrometria di massa, (2.2.43), 89
Spettrometria di risonanza magnetica nucleare, (2.2.33), 74
Spettrometria nel vicino infrarosso, (2.2.40), 85
Spettrometria Raman, (2.2.48), 108
Standard di riferimento, (5.12), 797
Sterilità, (2.6.1), 193
Steroli negli oli grassi, (2.4.23), 148
Stomi ed indice stomatico, (2.8.3), 323
Streptomicina preparazione iniettabile, 1300
Streptomicina solfato polvere sterile per preparazioni iniettabili, 1300
Styli, 886
Substrati cellulari per la produzione di vaccini per uso umano, (5.2.3), 715
Sulfacetamide collirio soluzione, 1301
Sulfacetamide preparazione oftalmica semisolida, 1302
Sulfacetamide sodica pomata oftalmica, 1302
Sulfacetamide sodica soluzione oftalmica, 1301
Sulfadiazina compresse, 1303
Sulfadiazina concentrato sterile, 1304
Sulfadiazina sodica fiale da diluire, 1304
Sulfadimethoxinum, 1004
Sulfadimetoxina compresse, 1304
Sulfadimetoxina, 1004
Sulfametopirazina compresse, 1305
Sulfametopirazina sciroppo, 1306
Sulfametopirazina, 1005
Sulfametopyrazinum, 1005
Suramina sodica, 1006
Suraminum natricum, 1006

T

Tabella comparativa della porosità dei filtri a setto poroso⁽¹⁾, (2.1.2), 23
Tabella delle caratteristiche fisiche dei radionuclidi menzionati nella Farmacopea Europea, (5.7), 767
Tabelle alcoolimetriche, (5.5), 747
Talco allo zinco ossido, 1319
Talco mentolato polvere aspersione, 1210
Talco timolato polvere aspersione, 1321
Tamponae medicatae, 942
Tamponi medicati, 942
Tecniche di amplificazione dell'acido nucleico, (2.6.21), 242
Tecniche di separazione cromatografica, (2.2.46), 95
Teofillina-etilendiammina compresse rivestite, 1306
Teofillina-etilendiammina preparazione iniettabile, 1307
Teofillina-etilendiammina supposte, 1308
Terebenthinae aetheroleum medicinale, 1010
Terminologia usata nelle monografie dei prodotti biologici, (5.2.1), 709
Tetracaina supposte, 1309
Tetraciclina cloridrato capsule, 1309
Tetraciclina cloridrato polvere sterile per preparazioni iniettabili, 1311
Tetraciclina preparazione iniettabile, 1311
Thiamphenicolum glycinicum hydrocloridum, 1007
Tiabendazolo compresse, 1312
Tiamfenicolo glicinato cloridrato, 1007
Tincturae maternas ad preparationes homoeopathicas, 1330
Tinture madri per preparazioni omeopatiche, 1330
Tiopentale sodico polvere sterile per preparazione iniettabile, 1313
Tioridazina compresse rivestite, 1314
Titolazione amperometrica, (2.2.19), 47

Titolazione potenziometrica, (2.2.20), 47
Titolazioni complessometriche, (2.5.11), 173
Tolbutamide compresse, 1315
Tossicità anormale, (2.6.9), 207
Tossina difterica per uso diagnostico, 1009
Toxinum diphtericum diagnosticum, 1009
Trementina essenza medicinale, 1010
Trifluoperazina compresse rivestite, 1316
Tubi per la determinazione di gas, (2.1.6), 25
Tubi per saggi comparativi, (2.1.5), 24

U

Uniformità delle unità di dosaggio, (2.9.40), 434
Uniformità di contenuto delle forme farmaceutiche a dose unica, (2.9.6), 357
Uniformità di massa delle dosi rilasciate da contenitori multidose, (2.9.27), 399
Uniformità di massa delle forme farmaceutiche a dose unica, (2.9.5), 356
Unità del sistema internazionale (si) utilizzate nella farmacopea e corrispondenza con altre unità, (1.1.6), 12

V

Vaccina ad usum humanum, 869
Vaccina ad usum veterinarium, 874
Vaccini per uso umano, 869
Vaccini per uso veterinario, 874
Vaccini virali aviari vivi: ricerca degli agenti estranei nei lotti di prodotto finito, (2.6.25), 252
Vaccini virali aviari: ricerca degli agenti estranei nei lotti di semenza, (2.6.24), 247
Vaccino tifoideo per uso orale, 1012

- Vaccino vivo da brucella abortus per uso veterinario, 1013
Vaginalia, 938
 Valeriana capsule, 1317
 Valutazione dell'efficacia dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario, (5.2.7), 726
 Valutazione dell'innocuità dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario, (5.2.6), 723
 Valutazione dell'innocuità di ciascun lotto dei vaccini e dei sierimmuni per uso veterinario, (5.2.9), 728
Vaselina borica (unguento), 1025
 Vaselina e lanolina unguento base, 1317
- Viscosità - metodo del viscosimetro a corpo rotante, (2.2.10), 40
 Viscosità, (2.2.8), 39
 Vitamine B compresse rivestite, 1318
 Volume apparente, (2.9.15), 366
- Z**
- Zinco all'acqua*, 1319
 Zinco ossido composto polvere cutanea, 1321
 Zinco ossido e acido salicilico pasta cutanea, 1321
- Zinco ossido e glicerolo pasta cutanea, 1322
 Zinco ossido e olio di mandorla unguento, 1323
 Zinco ossido pasta cutanea, 1319
 Zinco ossido polvere cutanea, 1319
 Zinco ossido sospensione cutanea, 1320
 Zinco ossido unguento, 1320
 Zinco solfato collirio soluzione, 1323
 Zinco solfato compresse, 1324
Zinco solfato soluzione oftalmica, 1323
 Zolfo e acido salicilico unguento, 1324
 Zolfo e potassio carbonato unguento, 1325

ISBN 978-88-240-2884-4



9 788824 028844

c.m. 300040868

€ 250,00